

**PENGARUH PEMBERIAN SUPLEMENTASI
VITAMIN E DAN VITAMIN C TERHADAP PROFIL
LIPID DAN KETEBALAN DINDING AORTA
ABDOMINALIS TIKUS YANG MENDAPAT DIET
TINGGI KOLESTEROL**

*(The effect of vitamin E and vitamin C supplementation on serum
lipid profile and the thickness of abdominal aortic wall of rats with
high cholesterol diet)*



**Tesis
untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat S-2**

**JOKO WAHYU WIBOWO
G4A099007**

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
PROGRAM PASCASARJANA UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
DESEMBER
2003**

HALAMAN PENGESAHAN

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN SUPLEMENTASI VITAMIN E DAN VITAMIN C TERHADAP PROFIL LIPID DAN KETEBALAN DINDING AORTA ABDOMINALIS TIKUS YANG MENDAPAT DIET TINGGI KOLESTEROL

disusun oleh

Joko Wahyu Wibowo
G4A099007

telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 17 Desember 2003
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,
Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama

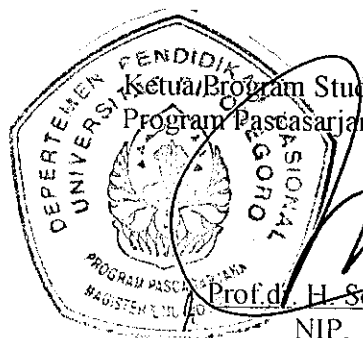


Prof. dr. S. Fatimah Muis, M.Sc, Sp.GM
NIP. 130 368 067

Pembimbing Kedua

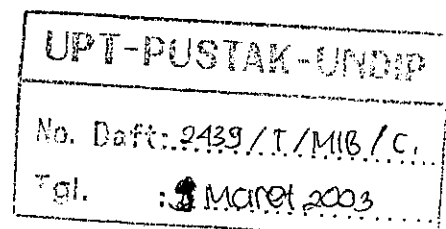


dr. H. M. Sulchan, M.Sc, Sp.GM
NIP. 130 529 404



Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Program Pascasarjana Universitas Diponegoro

Prof. dr. H. Soebowo, Sp.PA (K)
NIP. 130 352 549



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi atau lembaga pendidikan tinggi yang lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum / tidak diterbitkan sumbernya dijelaskan dalam tulisan dan daftar pustaka.

Seamarang, 9 Desember 2003

Joko Wahyu Wibowo

G4A 099 007

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kami panjatkan kepada Allah SWT, atas segala karunianya sehingga tesis ini dapat kami selesaikan.

Penghargaan dan ucapan terima kasih yang tak terhingga kami sampaikan kepada kedua pembimbing ; Prof dr Siti Fatimah Moeis MSc,SpGM dan dr H.M. Sulchan MSc, SpGM atas bimbingan dan dorongannya selama persiapan proposal sampai dengan penyelesaian akhir tesis ini.

Kami juga mengucapkan rasa terimakasih kepada para penguji; Dr.dr Hertanto WS, MSc, dr Parno Widjojo Sp.FK, dr Pudjadi, SU atas masukannya sehingga tesis ini menjadi lebih baik.

Kami juga mengucapkan terima kasih kepada dr. Nooryazid SpPA, dan dr Sutikno Tanuwidjaya SpPD sebagai nara sumber yang sudah memberi masukan dalam penyusunan tesis ini.

Ucapan terimakasih juga kami berikan kepada Ketua program studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro, yang telah memberikan dorongan semangat sehingga kami terpacu untuk segera menyelesaikan tesis ini.

Tidak lupa kami mengucapkan rasa terimakasih yang tak terhingga kepada Bapak Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan Bapak Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk menempuh program S2 pada Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.

Kepada teman-teman dan semua pihak yang tidak mungkin saya sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu sehingga terselesaikannya tesis ini kami ucapkan banyak terimakasih semoga menjadikan amal baik yang akan mendapat balasan yang berlipat dari Allah SWT.

DAFTAR ISI

Halaman judul.....	i
Kata pengantar.....	ii
Daftar tabel.....	iii
Daftar gambar.....	iv
Daftar lampiran.....	v
Abstrak.....	vi
 BAB I . PENDAHULUAN	
I . Latar belakang	1
II. Perumusan masalah	5
III. Tujuan Penelitian.....	6
 BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
I. Aterosklerosis	7
I.1. Definisi aterosklerosis.....	7
I.2. Patogenesis aterosklerosis.....	17
II. Metabolisme lipid.....	23
II.1. Kolesterol.....	23
II.2. LDL (Low Density Lipoprotein).....	28
II.3. HDL (High Density Lipoprotein).....	31
III. Radikal bebas.....	31
III.1. Proses pembentukan radikal bebas.....	31
III.2. Sistem antioksidan dalam tubuh.....	33
IV. Vitamin E (α -tokoferol).....	34
V . Vitamin C (asam ascorbat).....	37
VI. Hubungan antioksidan dengan aterosklerosis pada penelitian binatang....	41
Kerangka teori terjadinya aterosklerosis.....	43
Kerangka teori penelitian.....	44
Kerangka konsep penelitian.....	44
Hipotesis.....	45
BAB III. METODA PENELITIAN.....	46
3.1. Rancangan penelitian.....	46
3.2. Variabel penelitian.....	47
3.3. Skema proses percobaan.....	48
3.4. Analisis statistik.....	49
3.5. Definisi operasional variabel.....	49
3.6. Alat dan Bahan	50
3.7. Perlakuan sampel.....	51
3.8. Pemeriksaan sampel.....	51
BAB IV. HASIL PENELITIAN.....	54
BAB V . PEMBAHASAN.....	60

BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	67
DAFTAR PUSTAKA.....	68
LAMPIRAN	72

Abstract

Background : Hypercholesterolemia is an important risk factor in developing atherosclerosis . Hyperlipidemia may be caused by endogenic factor such as genetic or exogenic factors such as fatty diets especially high cholesterol diets. The latest theory in atherogenesis believed that hyperlipidemias is initiated by the oxidation of LDL by free radicals and than taken up by scavenger receptors to make foam cells. Foam cells formation will than befollowed with the thickening of arterial walls which is an initial process of atherosclerosis. Vitamin E and vitamin C as an antioxidants are thought to be able to protect LDL from free radical oxidation.

Objective : The aim of the study was to analyze the effect of vitamin E and vitamin C supplementation on serum lipid profile and the thickness of abdominal aortic wall of rats with high cholesterol diets

Method : Randomized post test control group design was used in this study. The subjects of study were 15 male Wistar rats, divided into 3 groups. Group I (K) was treated with standard diet for 30 days . Group II (P_I) was treated with standard diet + high cholesterol diet contained :10 grams yolk eggs every second day and tropical oil 0,05 ml every day for 30 day. Group III (P_{II}) was treated with standard diet + high cholesterol diet + supplementation with vitamin E 4 mg and vitamin C 2 mg everyday for 30 days. Total cholesterol, LDL,HDL,triglycerides, and thickness of aortic abdominal wall were measured on 30th days. Data were analyzed with non parametric statistic Mann-Whitney.

Result :The study revealed that there were no significant differences in the means of total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, and triglycerides of group receiving high cholesterol diet only and group receiving the same diet with vitamin E and vitamin C supplementation ($p_1=0,724$, $p_2=0,724$, $p_3=0,368$, $p_4=0,724$). Both groups also had no difference in the thickness of aortic abdominal walls ($p: 0,157$).

Conclusion : *There were no significant differences in total cholesterol level, HDL, LDL, triglycerides, and thickness of aortic abdominal wall between group treated with high cholesterol diet and group treated with high cholesterol diet supplemented with vitamin E and vitamin C*

Abstrak

Latar belakang : Hiperlipidemia terutama kadar kolesterol yang tinggi merupakan salah satu faktor utama terjadinya aterosklerosis. Hiperlipidemia dapat terjadi karena faktor endogen seperti genetik maupun faktor eksogen diantaranya diet tinggi kolesterol. Teori terbaru tentang aterosklerosis melibatkan radikal bebas yang akan mengoksidasi LDL (Low Density Lipoprotein) menjadi LDL-teroksidasi yang akan dikenali oleh *scavenger reseptor*, kemudian difagosit dan akan terbentuk sel busa (*foam cells*). Pembentukan sel – sel busa kemudian akan diikuti dengan penebalan tunika intima pembuluh darah yang merupakan proses awal terjadinya aterosklerosis. Vitamin E dan vitamin C sebagai antioksidan diharapkan dapat melindungi LDL terhadap oksidasi oleh radikal bebas sehingga akan menghambat terjadinya aterosklerosis.

Tujuan : Menganalisa pengaruh suplementasi vitamin E dan vitamin C terhadap profil lemak dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar jantan yang mendapat diet tinggi kolesterol

Metodologi : penelitian ini menggunakan disain : *post test only control group design*, 15 ekor tikus wistar jantan yang terbagi menjadi 3 kelompok masing-masing : (1). Mendapat diet standar (K), (2). Mendapat diet tinggi kolesterol yang terdiri dari diet standar + kuning telur + minyak (P_I), (3) Mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C (P_{II}).

Setelah 30 hari dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol total, HDL, LDL, trigliserida dan ketebalan dinding aorta abdominalis. Hasil penelitian diuji dengan menggunakan uji statistik non parametrik Mann-Whitney.

Hasil : Rerata kadar kolesterol total $P_{II} = 97$ mg% lebih rendah dibanding yang $P_I = 107$ mg% ($p = 0,724$), Rerata kadar HDL $P_{II} = 38$ mg% sama dengan $P_I = 38$ mg% ($p = 0,724$), Rerata kadar LDL $P_I = 40$ mg% lebih tinggi dibanding $P_{II} = 30$ mg% ($p = 0,368$), Rerata kadar trigliserida $P_{II} = 149$ mg% lebih tinggi dibanding $P_I = 147$ mg% ($p = 0,724$), Rerata tebal dinding aorta abdominalis $P_{II} = 119$ mikron lebih tipis dibanding dengan $P_I = 137$ mikron ($p = 0,157$).

Kesimpulan : Tidak ada perbedaan yang bermakna pada kadar kolesterol total, HDL, LDL, trigliserida dan ketebalan dinding aorta abdominalis antara kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol dengan kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C.

BAB I PENDAHULUAN

I. Latar belakang

Penyakit aterosklerosis yang ditandai dengan penebalan tunika intima pembuluh darah dapat memberikan manifestasi klinik yang penting berupa penyakit jantung koroner maupun *stroke*, merupakan penyebab utama kematian di negara maju maupun di negara berkembang.^{1,2} Penyakit kardiovaskuler merupakan penyebab kematian terbesar pada populasi usia 65 tahun keatas diseluruh dunia, dengan jumlah kematian terbanyak dinegara sedang berkembang. Diseluruh dunia daidapatkan 50 juta kematian tiap tahun dimana 39 juta dinegara yang sedang berkembang, diperkirakan penyakit kardiovaskuler merupakan 50 % penyebab kematian dinegara maju dan 25 % kematian dinegara sedang berkembang (WHO,1995)³. Di Indonesia saat ini penyakit jantung koroner merupakan penyebab kematian nomor satu seiring dengan perubahan pola makanan yang cenderung tinggi lemak dan rendah serat sebagai dampak dari peningkatan penghasilan.

Studi klinik maupun non klinik telah membuktikan adanya hubungan antara kadar lipoprotein densitas rendah (LDL) dalam plasma dengan perkembangan aterogenesis. Salah satu hipotesis menyatakan bahwa untuk menjadi aterogenik LDL harus mengalami modifikasi melalui proses oksidasi yang melibatkan radikal bebas,

yang dikenal dengan hipotesis oksidatif. Untuk pencegahan dan penanganan secara memuaskan diperlukan pendekatan secara integral multi disiplin.¹

Aterosklerosis tidak hanya terjadi karena penimbunan lemak pada dinding vaskuler saja, tetapi merupakan proses yang kompleks melibatkan proses imunologi, dan mekanisme trombotik. Faktor resiko aterosklerosis yang sudah diketahui sejak lama meliputi hiperlipidemi, merokok, obesitas, penurunan kadar HDL, peningkatan kadar LDL, hipertensi, dan DM.

Perkembangan Biologi vaskuler memperjelas pengetahuan bahwa pembuluh darah merupakan organ yang sangat kompleks. Pembuluh darah dapat berinteraksi dengan unsur- unsur yang ada dalam sirkulasi termasuk unsur yang merusak, misalnya kadar lemak dalam darah yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada lapisan endotel. Endotel yang rusak dan sel otot polos pada dinding pembuluh darah akan mengeluarkan zat vasoaktif, modulator dan mediator lokal yang dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan dan menjadi awal perkembangan terjadinya aterosklerosis.^{1,3}

Kemajuan ilmu biologi molekuler menyebabkan perlunya ditambahkan faktor resiko lain terjadinya atherosklerosis, yaitu kadar antioksidan dalam tubuh yang rendah berakibat meningkatnya gangguan akibat radikal bebas yang dapat mengenai lipid, karbohidrat maupun protein yang dapat menyebabkan kerusakan sampai dengan kematian sel. Gangguan fungsi protein maupun mutasi gen dapat mengakibatkan berhentinya proliferasi DNA. Kerusakan DNA akan mempengaruhi proses transkripsi

dan sintesa protein, kesalahan transkripsi yang bertumpuk-tumpuk akan menyebabkan kesalahan metabolisme yang makin banyak.^{1,3}

Perhatian terhadap radikal bebas dan anti oksidan semakin meningkat karena semakin hari keberadaan radikal bebas semakin meningkat. Radikal bebas dihasilkan sebagai akibat dari metabolisme dalam tubuh yang menggunakan oksigen, maupun peningkatan radikal bebas yang berasal dari luar tubuh, misalnya asap rokok, polusi udara, radiasi, sinar ultra violet, penggunaan pestisida, bahan kimia dari industri, dan ozone. Dengan peningkatan jumlah radikal bebas, diperlukan adanya sistem yang dapat mengurangi efek merusak radikal bebas yang disebut sebagai anti oksidan yang sudah dimiliki oleh tubuh maupun yang dapat berasal dari luar diantaranya dari diet yang dikonsumsi tiap hari. Penelitian di Swedia menunjukkan bahwa pada penderita serangan jantung ditemukan kadar LDL teroksidasi meningkat berhubungan dengan beratnya aterosklerosis.⁴ Diantara antioksidan yang ditambahkan dari luar tubuh yang penting adalah vitamin E dan vitamin C. Vitamin E merupakan vitamin yang larut dalam lemak dapat memutuskan reaksi radikal bebas pada jaringan dan merupakan antioksidan yang dominan dalam partikel LDL. Penelitian pada 16 kelompok di Eropa menunjukkan hubungan yang erat antara kadar vitamin E dalam darah dengan resiko penyakit jantung. Vitamin C merupakan vitamin yang larut dalam air secara tunggal dapat menghambat proses oksidasi LDL^{4,5}. Vitamin C juga dapat bekerja bersama-sama dengan vitamin E dalam menghambat reaksi oksidasi. Vitamin C akan mengikat vitamin E radikal yang terbentuk pada proses pemutusan

reaksi radikal bebas oleh vitamin E menjadi vitamin E bebas yang dapat memulai lagi sebagai antioksidan.⁵

Penelitian di USA pada perawat wanita dan profesional pria yang sehat tidak menemukan hubungan antara suplementasi vitamin E dengan resiko penyakit jantung koroner.⁴ 'Basel Prospective Study' yang melakukan penelitian selama 12 tahun memperlihatkan bahwa pria Swiss dengan kadar vitamin C dalam darah yang rendah mempunyai resiko penyakit jantung meningkat dibanding dengan pria yang mempunyai kadar vitamin C dalam darah yang normal.⁴ Stampfer dan Rimm melakukan penelitian hubungan antara antioksidan dengan Penyakit jantung koroner (PJK). Mereka dapat menunjukkan bahwa suplemen dengan vitamin E dosis tinggi (> 100 IU/hari) dapat menurunkan resiko PJK hingga 40% dibanding dengan dosis kecil (< 3 IU/hari). Penelitian yang menggunakan vitamin C dan β - karoten dalam hubungannya dengan PJK hasilnya tidak konsisten⁶.

Diet kuning telur yang kaya kolesterol dan trigliserida dalam konsentrasi rendah (0,5%-1% BB) akan meningkatkan kadar lemak darah⁷. Hiperlipidemi secara langsung dapat merangsang terjadinya disfungsi endotel. Apabila hiperlipidemi terjadi terus menerus (kronis) akan menyebabkan akumulasi lipoprotein pada tempat jejas yaitu pada lokasi terjadinya disfungsi endotel. Penumpukan lipid pada dinding arteri akan mencederai berbagai komponen arteri, meningkatkan lintas pinositosis transendotelial dan memudahkan masuknya plasma pada dinding arteri. Deposit lemak yang masuk tunika media akan mencederai miosit serta merangsang proses

hipertropi dan hiperplasi miosit.⁸ Hiperlipidemi yang terjadi akan meningkatkan permeabilitas endotel yang akan mempermudah masuknya lipid dalam endotel, akan terjadi oksidasi LDL yang akan merangsang terjadinya aterosklerosis.⁸

II. Perumusan masalah

Penelitian terdahulu tentang peranan vitamin E dan vitamin C untuk menurunkan penyakit jantung koroner, belum memberikan hasil yang memuaskan. Penelitian tentang suplementasi vitamin E dan vitamin C secara bersama-sama dalam kaitannya dengan pencegahan aterosklerosis belum ada, sehingga perlu untuk dilakukan penelitian tentang manfaat kombinasi vitamin E dan vitamin C dalam pencegahan aterosklerosis pada tingkat seluler. Penebalan dinding aorta abdominalis dapat digunakan sebagai indikator proses aterosklerosis yang terjadi pada pembuluh darah, selain itu pengukuran profil lipid darah dapat digunakan untuk mengetahui pengaruh diet tinggi kolesterol dalam proses aterosklerosis. Berdasar uraian pada latar belakang, muncul pertanyaan penelitian yaitu apakah ada perbedaan profil lipid dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dan tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C.

III. Tujuan Penelitian

Tujuan umum :

Menjelaskan pengaruh pemberian kombinasi vitamin E dan vitamin C terhadap profil lipid darah dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol.

Tujuan khusus :

1. Mendiskripsikan profil lipid darah dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dan tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C.
2. Menganalisis perbedaan profil lipid darah kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dengan kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C.
3. Menganalisis perbedaan ketebalan dinding aorta abdominalis kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dengan kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

I. Aterosklerosis

I.1. Definisi aterosklerosis

Aterosklerosis adalah perubahan dinding arteri yang ditandai dengan akumulasi lipid ekstrasel, pengambilan dan akumulasi leukosit, pembentukan sel busa, migrasi dan proliferasi sel otot polos, deposit matriks ekstrasel (misalnya kolagen, kalsium) akibat pemicuan multi faktor yang bersifat kronis progresif, fokal atau difus, bermanifestasi akut maupun kronis serta menimbulkan penebalan dan kekakuan arteri.^{1,2,3,10} Aterosklerosis dimulai dengan terjadinya plak "*fibro fatty*" pada intima, diikuti dengan kalsifikasi dalam tunika media arteri. Keadaan ini sering terjadi pada usia lebih dari 50 th. Aterosklerosis merupakan proses yang bersifat kronis dari arteri yang berukuran sedang dan besar yang berjalan secara pelan tetapi pasti terjadi penebalan dinding. Keadaan ini dapat merangsang terjadinya penyumbatan pembuluh darah karena trombus, yang dapat menyebabkan infark pada bagian organ yang disuplai arteri yang bersangkutan. Pada arteri koronaria dapat menyebabkan penyakit jantung iskemik, dan bila lesi arterial ini memberikan penyulit berupa trombus akan memberikan bentuk penyakit jantung iskemik yang serius, yaitu infark miokard. Di USA infark miokard merupakan penyebab 20%-25% kematian pada orang dewasa.⁴ Aterosklerosis dapat mengenai arteri renalis yang merupakan faktor risiko hipertensi, dapat pula mengenai arteri perifer menyebabkan *claudicatio intermittens*³

Lesi aterotrombotik yang terjadi pada pembuluh darah otak akan menyebabkan infark otak atau *stroke* yang merupakan salah satu penyakit yang memberikan kecacatan yang permanen. Angka kematian karena penyakit jantung iskemik di USA 6 kali lebih tinggi dibanding Jepang disebabkan karena perbedaan kebiasaan hidup yang meliputi merokok, konsumsi kolesterol dan lemak jenuh lain yang berasal dari binatang. Faktor resiko terjadinya aterosklerosis dan beratnya penyakit tergantung dari beberapa faktor konstitusional yang tidak dapat dikendalikan meliputi: umur, jenis kelamin, riwayat keluarga.^{2,3}

Lesi awal aterosklerosis dapat terjadi sejak anak-anak, tetapi manifestasi klinik hubungannya dengan kematian karena penyakit jantung iskemik dapat terjadi beberapa tahun kemudian yang meningkat dengan pertambahan umur.² Laki-laki lebih sering menderita aterosklerosis daripada wanita. Pada wanita infark miokard jarang terjadi pada usia premenopause selama tidak menderita DM, hiperlipidemia, atau hipertensi berat. Pada usia 35-55 th angka kematian karena penyakit jantung iskemik pada wanita kulit putih 1/5 dibanding pada laki-laki kulit putih. Pada dekade ketujuh sampai delapan frekwensi infark miokard menjadi sama. Faktor resiko lain seperti hipertensi, DM, dan metabolisme lipoprotein yang mengakibatkan peninggian kadar lemak dalam darah, yang terdapat pada hiperkolesterolemia familial.³

Terdapat 6 kelompok yang dapat menyebabkan aterosklerosis karena memberikan jejas pada endotel, sel otot polos, lembaran-lembaran elastis (*elastic lamella*) atau kombinasi tergantung dari intensitas dan lamanya jejas:

1. Gangguan hemodinamik yang terdiri dari turbulensi tinggi, tekanan darah tinggi, dan *shear stress*.

2. Gangguan metabolik

2.1 Lipid : Peningkatan konsentrasi lipid darah dalam jangka lama, perkembangan dari deposit lemak pada dinding akan memberikan jejas pada beberapa komponen jaringan arteri. Hiperlipidemia akan meningkatkan transendotelial pinositosis, menurunkan potensial negatif lapisan polisakarida pada permukaan luminal endotel (glikokaliks), terbukanya hubungan antar endotel akan memacu masuknya komponen plasma kedalam dinding arteri lebih dalam secara masif (ruang sub endotel).¹⁰ Hiperlipidemia berat akan menyebabkan sitotoksik pada endotel yang akan merangsang pergantian endotel. Deposit lemak pada dinding akan memberikan jejas pada sel otot polos dan menambah matriks ekstrasel hasil dari degradasi khususnya akibat dari stres oksidatif karena aktivitas endotel dan monosit, produk degradasi ini bersifat sebagai antigen asing yang akan merangsang reaksi autoimun yang akan nampak pada dinding arteri. Hiperlipemia nampaknya juga memfasilitasi perpindahan monosit kedalam dinding arteri dengan menginduksi permukaan endotel untuk membentuk molekul adesi leukosit yang kemudian memacu perlekatan sel ini pada dinding sebagai tempat penembusan kedalam subendotel. Sel otot polos mengambil lipid selalu dari pool ekstrasel, ketika monosit maupun sel otot polos terisi oleh lipid dalam jangka lama akan mengalami disintegrasi dan

melepaskan lipidnya sehingga akan menambah matriks ekstrasel. Proses injuri, eksudasi, dan proliferasi sel otot polos mungkin mengawali deposisi lipid ketika belum terjadi hiperlipidemia sebagai penyebab jejas arteri. Ketiga proses dapat terjadi bersama-sama ketika agen injuri dan hiperlipidemia berada dalam keadaan simultan. Apabila hiperlipidemia terjadi dalam waktu lama secara tunggal, akan terjadi deposisi lipid yang mendahului jejas pada otot polos dan terjadi reaksi proliferasi.¹⁰

- 2.2 Peningkatan kadar asam empedu dalam darah dapat memberikan jejas pada endotel karena terjadi kerusakan membran lipid.
 - 2.3 Diabetes, karena keadaan hiperlipidemia dan peningkatan konsentrasi ketoacid yang menyebabkan jejas pada endotel dan sel otot polos.
 - 2.4 Perubahan asam amino, homosisteinemia baik karena defek genetik maupun defisiensi metionin dalam jangka lama.
 - 2.5 Peningkatan kadar angiotensin dan katekolamin.
 - 2.6 Beberapa penyakit ginjal.
 - 2.7 Perubahan metabolisme mineral seperti kadar kalsium tinggi, atau defisiensi Mg atau Cu.
3. Keracunan zat kimia dari luar :
 - 3.1 Merokok, efek endoteliotoksik dari nikotin.
 - 3.2 Endotoksin.
 - 3.3 Alkaloid krotalaria.
 - 3.4 Sianida

4. Infeksi virus, Coxsackie virus B dapat menyebabkan nekrosis otot polos arteri.
5. Reaksi imun, kompleks antigen-antibodi yang diawali masuknya antigen kedalam tubuh dapat memberikan jejas pada endotel. Adanya reaksi silang antibodi terhadap antigen asing dengan dinding arteri, antibodi akan bereaksi langsung terhadap dinding arteri.
6. Kompresi, obstruksi, atau destruksi tunika adventitia saluran limfe, mungkin akibat terhentinya aliran limfe pada dinding arteri.¹⁰

Dikenal ada 4 faktor resiko utama yang dimungkinkan untuk dikontrol, yaitu: hiperlipidemia, hipertensi, merokok, dan DM.^{1,3}

A.1 Hiperlipidemia

Diantara faktor resiko ini yang dikenal paling berperan dalam aterosklerosis adalah hiperlipidemia khususnya hiperkolesterolemia. Hipertrigliseridemia yang akan menyebabkan peningkatan kadar VLDL berperan juga meskipun tidak signifikan dibanding hiperkolesterolemia. Beberapa bukti yang menunjukkan peranan hiperkolesterolemia dalam proses aterogenesis adalah percobaan binatang diet tinggi kolesterol dapat memproduksi plak aterosklerotik. Lemak yang terdapat dalam plak (ateroma) adalah kolesterol dan kolesterol ester derivat dari lemak dalam plasma.⁷ Dari analisis epidemiologi terdapat korelasi yang signifikan antara total kolesterol plasma atau kadar LDL dengan beratnya aterosklerosis dihubungkan dengan kematian karena penyakit jantung iskemik, tidak ada batas yang jelas dalam kadar kolesterol tetapi hampir tidak pernah terjadi aterosklerosis pada kadar kolesterol serum dibawah 150 mg/dl.^{3,10}

Penyakit genetik maupun didapat yang menyebabkan hiperkolesterolemia (hiperkolesterolemia familial, DM, hipertiroidism) menyebabkan kejadian aterosklerosis menjadi lebih awal dan lebih berat. Kadar kolesterol plasma yang diturunkan dengan diet maupun obat akan menurunkan resiko kematian karena penyakit jantung. Manipulasi genetik pada tikus yang mengganggu metabolisme lemak akan meningkatkan aterosklerosis.⁸

Peningkatan konsentrasi lemak dalam waktu yang lama dan penimbunan lemak pada dinding arteri dapat menyebabkan jejas pada berbagai macam komponen pada jaringan arteri.⁸ Hiperlipidemia akan meningkatkan permeabilitas endotel terhadap makromolekul dengan peningkatan jalur "*transendothelial pinocytic*" yang dapat menyebabkan komponen plasma masuk kebagian dalam dinding arteri terutama LDL yang dapat mengalami oksidasi dan akan dikenali oleh reseptor skavenger makrofag.^{7,8}

Hiperlipidemia dapat disebabkan karena faktor eksogen dan faktor endogen dimana tipe eksogen yang merupakan bentuk yang paling sering terjadi dapat disebabkan karena: (a) Kelebihan kalori terutama bila bersama-sama dengan aktifitas fisik kurang yang akan berkembang menjadi obesitas, dan kalori yang berasal dari berbagai makanan akan dirubah menjadi lemak dan disimpan dalam jaringan adiposa, terutama trigliserida dan VLDL (b). Persentasi kolesterol dalam diet yang tinggi (c). komposisi asam lemak jenuh lebih banyak dibanding asam lemak tidak jenuh dalam trigliseride yang dimakan (esterifikasi kolesterol oleh asam lemak tidak jenuh akan meningkatkan ekskresi dari hati menjadi asam empedu). Faktor endogen

penyebab hiperlipidemia dapat terjadi pada DM : mungkin karena penggunaan lemak yang menurun, hipotiroidisme, beberapa penyakit ginjal dengan mekanisme yang belum diketahui, dan beberapa gangguan metabolisme yang diturunkan.⁹

High Density Lipoprotein berhubungan dengan aterosklerosis karena berperan dalam transportasi kolesterol dari sel dan membawanya kehepar untuk kemudian diekskresi kedalam empedu. Bila kadar dalam plasma tinggi akan menurunkan resiko penyakit jantung iskemik. Olah raga dan mengkonsumsi alkohol dalam jumlah moderat akan meningkatkan kadar HDL, sedang merokok dan kegemukan akan menurunkan kadar HDL plasma.^{2,6}

A.2. Hipertensi

Hipertensi merupakan faktor resiko untuk aterosklerosis pada semua umur dan akan menjadi lebih penting dari hiperkolesterolemi pada usia lebih dari 45 th. Pada laki-laki usia 45 th – 62 th dengan tekanan darah 160/95 mmHg mempunyai resiko penyakit jantung iskemik lima kali lebih tinggi dibanding dengan tekanan darah 140/90mmHg atau lebih rendah.^{1,2} Hipertensi dapat mengakibatkan jejas pada endotel pembuluh darah dengan jalan meningkatkan '*transendotelial pinocytosis*' pada keadaan hipertensi ringan, dan kerusakan atau terbukanya '*inter endotelial junction*' bila terjadi hipertensi berat.¹⁰

Hipertensi dapat memberikan efek pada arteri kecil dan arteriole dengan cara peregangan pada dinding arteriole yang dapat menyebabkan *counter reaction* dengan kekuatan kontraktil dari dinding untuk mempertahankan diri dari peregangan yang terjadi, reaksi ini ditandai dengan pertama: Peningkatan dari *actin* dan *miosin*

bersama dengan sitoplasma sel endotel , dan kedua dengan proliferasi sel otot polos dari bagian media dengan produksi kolagen sehingga akan meningkatkan penebalan dinding arteriole (*hyperplastic arteriolosclerosis*). Hipertensi dapat juga meningkatkan permeabilitas endotel terhadap plasma beserta isinya, sehingga akan terjadi insudasi plasma kedalam dinding arteriole karena peningkatan transendotelial pinositosis atau kerusakan inter endothelial junction (*hyalin arteriolosclerosis*). Hipertensi dapat juga menyebabkan nekrosis dinding arteriole dan mempresipitasi fibrin disekitar otot polos yang nekrotik dengan mekanisme yang belum diketahui, dinding yang nekrosis dapat menginduksi rupture dengan perdarahan dan trombosis pada arteriole yang terkena. (*necrotizing arteriolitis atau fibrinoid necrosis dari arteriole*)¹⁰

A.3. Merokok

Kebiasaan merokok merupakan faktor resiko penting lain yang dapat meningkatkan insiden dan beratnya aterosklerosis terutama pada wanita. Bila merokok lebih dari 1 'packs'/hari dalam beberapa tahun ,angka kematian karena penyakit jantung iskemik meningkat lebih dari 200%, mengurangi rokok akan menurunkan kematian³. Nikotin merupakan zat kimia yang terkandung dalam rokok merupakan zat toksik terhadap endotel pembuluh darah, akan menimbulkan jejas pada endotel sehingga merupakan penyebab terjadinya aterosklerosis.¹⁰

A.4. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus menginduksi terjadinya hiperkolesterolemia dan meningkatkan predisposisi terjadinya aterosklerosis. Bila faktor resiko yang lain sama, insiden infark miokard pada penderita diabetes dua kali lebih tinggi dibanding dengan yang bukan penderita diabetes.³ Diabetes Mellitus juga meningkatkan konsentrasi benda keton dalam darah yang dapat menyebabkan jejas pada endotel dan miosit.¹⁰

Dengan perkembangan ilmu terutama biologi molekuler, faktor resiko yang ada perlu ditambahkan beberapa parameter baru dalam proses aterogenesis dan trombogenesis. Konsep baru tentang aterosklerosis melibatkan beberapa proses yaitu: infiltrasi lemak, kerusakan endotel, radikal bebas, dan proses imunologi yang mendasari terjadinya inflamasi, yang menjadi latarbelakang terjadinya proses aterosklerosis. Dengan terlibatnya radikal bebas dalam proses aterogenesis menyebabkan status antioksidan pada tubuh perlu untuk diperhitungkan.¹

Lesi aterosklerotik terutama terjadi pada arteri sedang dan besar dapat menimbulkan iskemia jantung, otak, atau ekstremitas dan menyebabkan infark. *The American Heart Assosiation Committee on Vascular Lesion* menentukan klasifikasi baru perkembangan lesi aterosklerotik menjadi 6 fase :

1. Lesi aterosklerotik tipe I

Pada lesi tipe I (initial) memperlihatkan perubahan paling dini yang pertama kali bisa terdeteksi secara mikroskopis dan kimiawi, secara seluler ditandai dengan

penambahan sejumlah sel busa ditunika intima arteri dan terjadi penebalan adaptif dari tunika intima , terutama regio yang mudah terkena aterosklerosis.

2. Lesi aterosklerotik tipe II

Lesi tipe II (garis lemak) merupakan lesi yang pertama kali bisa dilihat dengan mata telanjang berupa garis-garis atau bercak berwarna kuning dipermukaan intima arteri, gambaran mikroskopis lesi tipe II terdiri atas sel busa berlapis, sel otot polos yang berisi butiran lemak, sejumlah besar makrofag tanpa butiran lemak, sel limfosit T, dan sel mast ditunika intima disertai butiran heterogen lipid ekstrasel.

Garis lemak pada awalnya terdiri atas makrofag, monosit,dan limfosit T yang mengandung lipid (sel busa) selanjutnya akan bergabung dengan sejumlah sel otot polos.

3. Lesi aterosklerotik tipe III.

Lesi tipe III (intermedia, transisional, preateroma), merupakan jembatan morfologis dan kimiawi antara lesi tipe II dan lesi tipe lanjut . Gambaran histopatologisnya khas ditandai dengan timbunan butiran dari partikel lipid ekstrasel yang identik dengan lesi tipe II, disekitar lapisan sel otot polos yang mengalami perubahan adaptif tunika intimanya, timbunan lipid yang lebih banyak dan lebih tebal dibawah lapisan makrofag dan sel busa menggantikan matriks dan serabut proteoglikan antarsel, serta mendorong dan memisahkan sel otot polos.

4. Lesi aterosklerotik tipe lanjut (IV,V,VI)

Pada tipe ini terjadi akumulasi lipid ekstrasel masif yang berhubungan dengan disorganisasi dan penebalan intima, deformitas dinding arteri dan sering disertai dengan komplikasi berupa fissura, hematoma dan trombosis. Deposit lemak ekstrasel yang terjadi cukup besar dan dapat merusak intima. Pada stadium sangat lanjut deposit lemak memodifikasi tunika media dan adventitia dibawahnya, pada lesi tipe ini juga terjadi mekanisme trombotik yang lebih menonjol.⁸

I.2 Patogenesis aterosklerosis

Beberapa konsep diajukan dalam usaha menjelaskan patogenesis aterosklerosis antara lain : Infiltrasi lipid sub endotel, kerusakan endotel, radikal bebas, dan imunologi. Akhir-akhir ini telah diajukan teori tentang peranan monosit sebagai awal lesi aterosklerosis. Penggabungan teori infiltrasi lemak dan kerusakan endotel paling banyak dianut.² Insiden aterosklerosis terjadi pada populasi yang berhubungan dengan kadar lemak darah yang tinggi terutama kolesterol total, trigliserid, VLDL, IDL, dan LDL.

HDL berperan sebagai proteksi terhadap aterosklerosis.¹ Kombinasi beberapa faktor resiko sangat meningkatkan kemungkinan terjadinya PJK. Brenson GS, dkk melaporkan bahwa peningkatan tekanan darah sistole, peningkatan LDL kolesterol dan trigliserida, serta merokok berhubungan secara bermakna terhadap luasnya aterosklerosis pada orang muda.²

Pada keadaan normal endotelium menghalangi penetrasi molekul-molekul besar seperti lipoprotein dengan densitas rendah (LDL) dan lipoprotein dengan densitas sangat rendah (VLDL) kedalam intima sedangkan lipoprotein dengan densitas yang lebih tinggi dengan molekul yang lebih kecil dapat bergerak bebas kedalam dan keluar intima. Sel-sel endotel juga menghasilkan prostasiklin (PGI₂) dan oksida nitrit yang dapat mencegah penumpukan platelet. Peninggian permeabilitas endotelium merupakan kelainan pertama akibat terjadinya jejas arteri yang merupakan respons non spesifik yang disebabkan oleh virus , toksin , kompleks imun , produk yang dilepaskan oleh sel darah putih atau platelet yang teraktivasi, dan stress fisik yang tidak lazim¹⁰ . Peningkatan permeabilitas ini dapat juga disebabkan karena peninggian konsentrasi lipoprotein dalam darah .²

Infiltrasi LDL kedalam lapisan endotel akan mengalami asetilasi dan oksidasi oleh sel disekitarnya , LDL teroksidasi akan difagosit oleh makrofag menjadi sel busa. Adanya sel busa ini merupakan asal mula terjadinya garis lemak (*fatty streak*) dan memicu keluarnya faktor pertumbuhan yang akan mempengaruhi monosit, sel otot polos, fibroblas, dan platelet. Sel otot polos akan bermigrasi kearah intima, terjadi proses pembuatan jaringan kolagen yang melebihi serabut elastin. Platelet akan mengalami agregasi hebat, dengan adanya kalsium pada lapisan fibrous akan menyebabkan kalsifikasi dan permukaan menjadi kasar dan ireguler sehingga ukuran lumen menjadi kecil dan sering terjadi ulserasi menyebabkan terjadinya trombus.^{1,2,6,7}

Virchow pada tahun 1856 mengajukan konsep kerusakan endotel yang mendahului aterosklerosis. Kerusakan endotel ini dapat terjadi karena beberapa sebab

mekanis, kimia , imunologi, misalnya: hipertensi, rokok, LDL, homosistein, toksin, virus, bakteri. Homosistein bersifat toksik terhadap pembuluh darah dan merupakan asam amino yang merangsang terjadinya trombosis dan banyak dihubungkan dengan kejadian aterosklerosis yang lebih dini. Homosistein tidak hanya sebagai prediktor resiko penyakit jantung tetapi juga merupakan mediator kimia yang menyebabkan jejas pada endotel dan disfungsi endotel. Kerusakan endotel akan menyebabkan endotel lepas ikut masuk sirkulasi dan bersinggungan dengan makrofag dan platelet, memacu pelepasan zat aktif, dan akan memacu terjadinya fibrin dan trombosis.^{1,2,14}

Halliwell dan Cross, pada tahun 1987 menyampaikan konsep radikal bebas dalam proses aterosklerosis dimana peroksida lipid yang berupa malondialdehid (MDA) merupakan produk reaksi dari radikal bebas yang apabila terbentuk secara berlebihan menyebabkan terjadi stress oksidatif. Reaksi oksidasi ini akan terus terjadi secara berantai yang akan bereaksi terus menerus terhadap fosfolipid dari LDL. Akibat dari reaksi ini terjadi oksidasi LDL yang akan difagosit oleh makrofag sehingga terbentuk foam sel dalam jumlah yang berlebihan. Proses fagositosis yang dilakukan oleh netrofil , monosit dan sel T limfosit akan menghasilkan radikal bebas superoksida yang berperilaku sebagai oksidan yang akan mempercepat kerusakan sel.¹

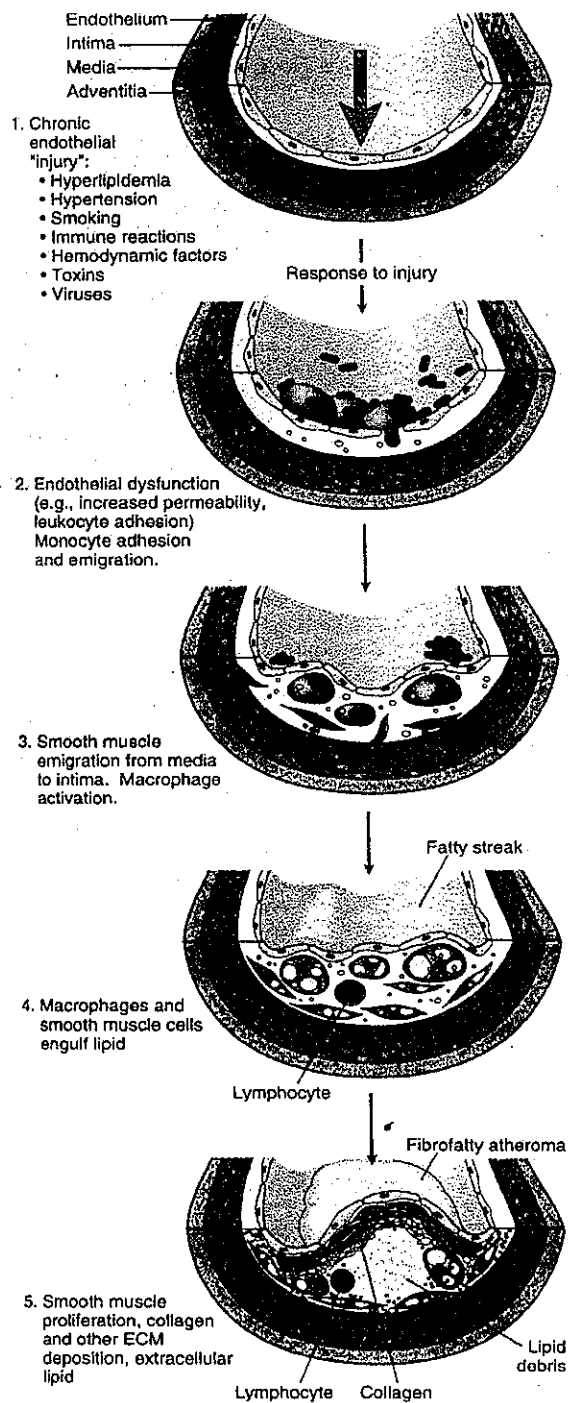
Peroksidasi lipid pada awalnya akan menghasilkan partikel LDL dengan hanya termodifikasi minimal (mm-LDL) dan partikel LDL yang teroksidasi penuh sebagai LDL teroksidasi (LDL-oks). mm-LDL merupakan suatu partikel yang mengandung hidroperoksida lipid dalam jumlah sedikit , peroksidasi lipid maupun

dekomposisi hidropoksida lipid masih dalam tahap awal dan Apo B tetap tidak rusak. Sedangkan pada LDL-oks terjadi dekomposisi maupun perubahan total dan terbentuk produk peroksidasi yang amat reaktif dan terjadi modifikasi pada Apo B. mm-LDL mempunyai efek pada ekspresi protein proaterogenik yang dikode oleh gen, seperti MCP-1 (Monocyte Chemotactic Protein-1) dan MCSF (Macrophage Colony Stimulating Factor). Selanjutnya mm-LDL akan merangsang ekspresi sitokin proinflamasi dan merangsang pelepasan faktor jaringan dari monosit dan endotel, sehingga meningkatkan perkembangan terjadinya trombus. Mekanisme proaterogenik dari LDL teroksidasi disebabkan terjadinya produk peroksida lipid yang sitotoksik seperti aldehida (MDA dan HNA). LDL teroksidasi juga mempunyai sifat kemotaktik terhadap monosit, menghambat migrasi dari makrofag, merangsang ekskresi P-selektin yaitu protein adesi monosit dari endotel, juga merangsang migrasi dan proliferasi sel otot polos melalui aktivasi fosfolipase D, dan melepaskan fosfolipid yang termodifikasi oleh oksidasi dengan aktivitas seperti faktor aktivasi trombosit. LDL teroksidasi juga meningkatkan irama vasomotor melalui beberapa mekanisme yaitu: merangsang pelepasan vasokonstriktor endotelin 1 dan F2-isoprostan, penurunan produksi vasodilator melalui penghambatan ekspresi eNOS, menghambat kerja vasodilator melalui inaktivasi guanil siklase, atau mengganggu signal protein G. LDL teroksidasi juga dikenali oleh reseptor skavenger dari makrofag dan akan membentuk sel-sel busa, dan akan terjadi deposit lemak pada dinding arteri.^{1,6,14}

Proses aterogenesis dimulai dengan masuknya LDL kedalam lapisan subendotel (intima) dan akan mengalami oksidasi, mm-LDL akan menstimulir

ekspresi beberapa gen dari sel endotel meliputi : intracelluler adhesion molecule (ICAM), dan vascular cell adhesion molecule (VCAM), MCP-1, MCSF, "*tissue factor*", plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1) yang akan menyebabkan adesi monosit ke endotel, diikuti kemotaktik ke subendotel, terjadi aktivasi dan diferensiasi makrofag, mm-LDL akan teroksidasi penuh oleh sel-sel dinding arteri seperti makrofag, sel otot polos yang bermigrasi dari media. LDL teroksidasi akan ditangkap oleh reseptor skavenger makrofag membentuk sel busa. LDL teroksidasi juga akan merangsang ekspresi gen beberapa sitokin dan faktor pertumbuhan yang menyebabkan terjadinya proliferasi sel otot polos. Disamping itu efek LDL teroksidasi terhadap koagulasi dan fibrinolisis , seperti tissue factor, PAI-1, TNF- α , PDGF, dan menghambat kerja EDRF, akan memperparah aterosklerosis yang terjadi.⁶ Proses imunologi diduga berperan juga didalam proses aterosklerosis, karena ditemukan antibodi terhadap LDL teroksidasi pada penderita aterosklerosis.⁹

Pembentukan plak pada hiperkolesterolemia akan menurunkan kadar NO (Nitric oxide). NO berfungsi dalam relaksasi otot polos pembuluh darah, sehingga bila kadar NO rendah akan terjadi peningkatan tonus vaskuler. NO juga berperan sebagai antioksidan yang menghambat oksidasi LDL. Apabila NO bertemu dengan anion superoksida akan terjadi peroksi nitrit. Peroksinitrit dapat menyebabkan kerusakan jaringan disekitarnya dan juga dapat merusak permeabilitas endotel sehingga mempermudah masuknya LDL kedalam tunika intima.^{11,12,13}



Gambar 1. Teori terjadinya aterosklerosis pada pembuluh darah³

II. Metabolisme Lipid

Pada manusia asam lemak terutama dibentuk di hati, dengan glukosa makanan sebagai sumber utama karbon. Pada proses glikolisis glukosa diubah menjadi piruvat yang masuk kedalam mitokondria dan membentuk asetil KoA dan oksaloasetat. Kedua senyawa ini bergabung membentuk sitrat, kemudian diangkut ke sitosol. Dalam sitosol sitrat akan diurai untuk membentuk asetil KoA, sumber karbon untuk reaksi yang terjadi pada kompleks asam lemak sintase. Enzim pengatur utama untuk proses ini asetil koA karboksilase, membentuk malonil koA dari asetil koA.^{18,28}

Asam lemak yang dibentuk didalam sel atau yang diperoleh dari makanan , digunakan oleh berbagai jaringan untuk membentuk triasilgliserol (simpanan energi) dan gliserofosfolipid dansfingolipid (komponen utama membran sel).

Dihati triasil gliserol dibentuk dari asil koA dan gliserol 3-fosfat. Pada jalur ini asam fosfatidat berfungsi sebagai zat antara. Triasil gliserol tidak disimpan didalam hati, tetapi dikemas bersama apoprotein dan asam lemak lain dalam lipoprotein berdensitas sangat rendah (VLDL) dan disekresikan kedalam darah.^{18,28}

II.1. Kolesterol

Kolesterol diperoleh dari makanan atau disintesis melalui jalur yang terdapat pada hampir semua sel tubuh, terutama dalam sel hati dan usus. Prekursor untuk sintesis kolesterol adalah asetil Ko A , yang dapat dibentuk dari glukosa asam lemak, maupun asam amino. Dua molekul asetil Ko A membentuk asetoasetil KoA yang bergabung dengan molekul asetil KoA lainnya membentuk hidroksimetilglutaril KoA

(HMG- KoA). Reduksi HMG-KoA menghasilkan mevalonat, reaksi ini dikatalisis oleh HMG-KoA reduktase. Reaksi ini menjadi penentu kecepatan pembentukan kolesterol. Mevalonat menghasilkan unit-unit isopren yang akhirnya saling bergabung membentuk skualen. Siklisasi skualen menghasilkan cincin steroid, dan sejumlah reaksi berikutnya akan menghasilkan kolesterol.^{18,28}

Kolesterol dikemas dalam kilomikron diusut dan lipoprotein densitas sangat rendah (VLDL) dihati. Kolesterol diangkut lewat darah dalam partikel-partikel lipoprotein tersebut, yang juga mengangkut triasil gliserol . Pada saat triasilgliserol pada lipoprotein darah dicerna oleh lipoprotein lipase, kilomikron diubah menjadi sisa kilomikron dan VLDL diubah menjadi lipoprotein berdensitas antara (IDL) dan selanjutnya menjadi lipoprotein berdensitas rendah (LDL). Produk-produk ini kembali kehati kemudian berikatan dengan reseptor yang berada dimembran sel dan diserap melalui proses endositosis untuk dicerna oleh ensim lisosom. LDL juga diserap oleh jaringan diluar hati (perifer) melalui reseptor LDL yang ada dan mengalami endositosis. Hati menggunakan kolesterol daur ulang ini untuk membentuk VLDL dan garam empedu^{18,28} (gambar 2). Kolesterol intrasel yang berasal dari lipoprotein darah menurunkan pembentukan kolesterol dalam sel, merangsang penyimpanan kolesterol sebagai ester kolesterol , dan menurunkan pembentukan reseptor LDL. Reseptor LDL ini ditemukan pada permukaan sel dan berikatan dengan berbagai lipoprotein sebelum endositosis²⁸

Lipoprotein berdensitas tinggi (HDL) juga mengandung triasil gliserol dan kolesterol, tetapi fungsinya sangat berbeda dengan kilomikron dan VLDL yang

mengangkut triasil gliserol. HDL menukar protein dan lemak dengan lipoprotein lain dalam darah. HDL memindahkan apolipoprotein E (Apo E) dan Apo CII ke kilomikron dan VLDL. Setelah pencernaan triasilgliserol VLDL, Apo E dan Apo CII dipindahkan kembali ke HDL, selain itu HDL memperoleh kolesterol dari lipoprotein lain dan dari membran sel serta mengubahnya menjadi ester kolesterol melalui reaksi yang dikatalisis oleh *Lesitin Cholesterol Acyltransferase (LCAT)*. Kemudian HDL secara langsung mengangkut kolesterol dan ester kolesterol ke hati atau memindahkan ester kolesterol ke lipoprotein lain melalui protein pemindah ester kolesterol (*Cholesterol ester Transfer Protein, CETP*). Akhirnya partikel lipoprotein membawa kolesterol dan ester kolesterol ke hati untuk diserap secara endositosis dan dicerna dalam lisosom. Sehingga fungsi HDL adalah mengembalikan kolesterol ke hati.^{18,28}

Hiperkolesterolemia merupakan suatu faktor resiko terjadinya aterosklerosis sudah lama diketahui karena kolesterol yang tinggi akan merupakan penjejas pada pembuluh darah. Banyak faktor yang berperan dalam pengaturan kadar kolesterol darah.

Peningkatan kadar kolesterol pada jaringan dapat disebabkan karena :

1. Pengambilan kolesterol oleh reseptor misalnya reseptor LDL, atau scavenger receptor.
2. Pengambilan kolesterol bebas dari lipoprotein kaya kolesterol pada membran sel.
3. Sintesis kolesterol

4. Hidrolisis kolesterilester oleh enzim kolesterilester hidrolase.

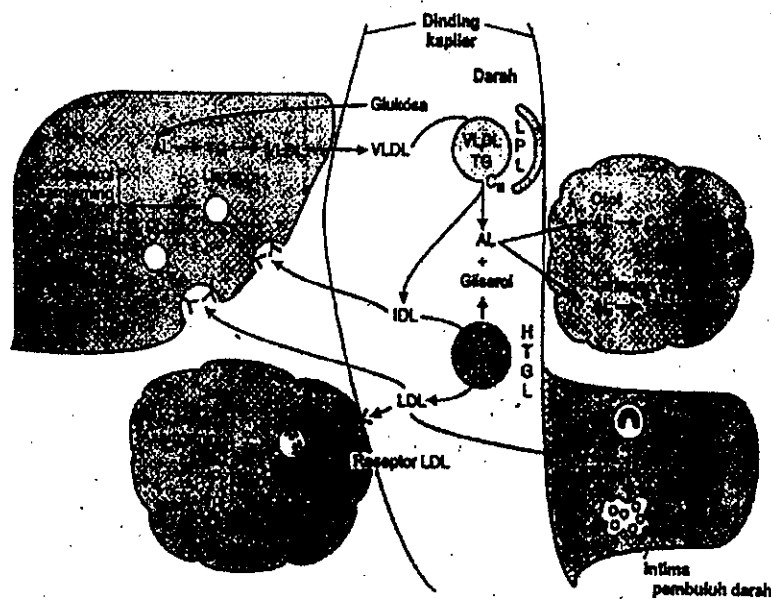
Penurunan kadar kolestrol pada jaringan tergantung dari :

1. Pelepasan kolesterol dari membran sel kedalam lipoprotein dengan potensial kolesterol rendah Khususnya HDL 3, HDL discoid atau pre β HDL yang dirangsang oleh LCAT (*Lechitin Cholesterol Acyl Transferase*)
2. Esterifikasi kolesterol oleh ALAT (*Acyl co-A Cholesterol Acyl Transferase*)
3. Penggunaan kolesterol untuk sintesis steroid lain misalnya hormon atau asam empedu dalam hati.

Sintesis kolesterol dalam hati dikontrol oleh regulasi HMG CoA reduktase, yang dihambat oleh mevalonat, yang merupakan *immediate product* dan kolesterol yang merupakan produk akhir dari jalur ini. Kolesterol atau produk metabolit misalnya sterol yang teroksigenasi akan menghambat transkripsi gen HMG CoA reduktase. Sintesis kolesterol juga dihambat oleh LDL kolesterol melalui reseptor LDL, terjadi variasi diurnal pada sintesis kolesterol dan enzim reduktase. Aktivitas hormon juga berpengaruh terhadap kadar kolesterol dimana hormon tiroid dan insulin akan meningkatkan aktifitas HMG CoA reduktase sehingga akan menurunkan kadar kolesterol dalam darah, sedangkan hormon glukagon atau glukokortikoid akan menurunkan aktifitas HMG CoA reduktase.¹⁸

Diet kolesterol maupun reduksi kolesterol endogen akan memberikan variasi efek, dimana pada percobaan binatang hanya 0,05 % kolesterol berasal dari diet , 70 -80 % kolesterol berasal dari hati, usus halus, dan kelenjar adrenal. Apabila

pengambilan kolesterol dari diet dinaikkan 2 % produksi kolesterol endogen akan turun, hanya sintesis oleh hati yang dapat dihambat dengan diet.¹⁸ Pada manusia penurunan kadar kolesterol plasma dengan mengurangi diet hasilnya bervariasi, pada umumnya penurunan 100 mg kolesterol dalam diet akan menurunkan 0,13 mmol/L pada serum¹⁸



Gambar 2. Metabolisme VLDL²⁸

II.2. LDL (Low Density Lipoprotein)

II.2.1 Komposisi LDL

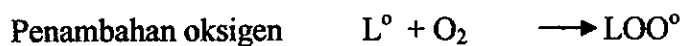
Komponen lipid pada LDL kurang lebih ada 2600 molekul dimana separuhnya adalah asam lemak tak jenuh ganda (PUFA), seperti asam linoleat (86%), arakhidonat (12%), dan dokosaheksaenoat (2%) yang sangat rentan terhadap oksidasi karena ikatan rangkapnya . Sebagai pelindung oksidasi yang terdapat dalam LDL adalah antioksidan lipofilik yang terdapat dibagian kulit luar dari LDL. Antioksidan terbanyak dalam LDL adalah α - tokoferol , dengan jumlah kurang lebih 7 molekul perpartikel LDL. Antioksidan lain yang terdapat dalam LDL adalah γ tokoferol , α dan β karoten , ubiquinolinol-10 dalam jumlah yang kecil. Ratio molar PUFA terhadap anti oksidan dalam LDL rata-rata 150:1.¹¹

LDL kecil padat lebih rentan terhadap oksidasi karena kandungan α tokoferol dan ubiquinol-10 berbeda dengan LDL biasa yaitu mempunyai kandungan antioksidan lebih sedikit dan kadar PUFA yang lebih tinggi.¹

Oksidasi LDL secara prinsip merupakan reaksi rantai peroksidasi lipid yang dirangsang oleh radikal bebas . Proses oksidasi dimulai dari serangan radikal bebas (X°) dengan menarik atom hidrogen dari salah satu 1200 PUFA yang terikat pada lipid LDL (LH). Reaksi awal ini akan menghasilkan radikal lipid (L°) yang dengan cepat akan bereaksi dengan molekul oksigen untuk membentuk radikal peroksida (LOO°). pembentukan LOO° ini akan mencetuskan reaksi berantai dengan menarik

atom hidrogen dari lemak (LH) dan menghasilkan hidroperoksida lipid (LOOH) dan radikal lipid yang baru (L°). jadi tanpa adanya zat yang dapat menghentikan reaksi berantai ini akan merubah semua PUFA pada LDL menjadi hidroperoksida lipid.^{5,6}

Reaksi oksidasi lipid dapat digambarkan melalui persamaan berikut:



Jumlah lipid peroksida yang terbentuk pada fase inisiasi tergantung dari jumlah antioksidan penghambat reaksi rantai yang tersedia, misalnya α -tokoferol, akan terbentuk tokoferol radikal yang bersifat tidak reaktif dan didaur ulang oleh ko-antioksidan yang lain misalnya vitamin C. jadi oksidasi LDL yang terjadi karena stress oksidatif tergantung dari kandungan antioksidannya sebelum terbentuk sejumlah hidroperoksida lipid.^{6,10}

Fase propagasi yang dimulai dari oksidasi PUFA dalam LDL menjadi hidroperoksida lipid berjalan amat cepat. Hidroperoksida lipid bukan merupakan produk akhir yang stabil, akan diubah menjadi macam-macam produk akhir : aldehida, keton, alkohol, epoksida, dan hidrokarbon.^{10,11}

Kandungan antioksidan yang dapat mencegah oksidasi LDL merupakan hal yang penting untuk perlindungannya. Bila senyawa antioksidan lipofilik yang

terkandung didalam LDL cukup banyak, maka LDL akan terlindungi dari proses oksidasi.

Secara teoritis penambahan vitamin E dalam makanan dapat meningkatkan kandungan vitamin E dalam LDL dan dapat meningkatkan perlindungan terhadap oksidasi. Dengan pemberian bersama-sama dengan vitamin C akan terjadi penghambatan reaksi terhadap radikal bebas yang lebih efektif, karena disamping vitamin E dan vitamin C secara sendiri-sendiri dapat bersifat sebagai antioksidan, vitamin C juga berfungsi untuk mengikat vitamin E radikal menjadi vitamin E yang aktif lagi untuk bereaksi dengan radikal bebas yang lain, sehingga penggunaan vitamin E lebih hemat.^{5,6,11}

II.2.2. Reseptor LDL

Reseptor LDL akan mengikat LDL yang merupakan lipoprotein yang mengangkut kolesterol. Bila level reseptor rendah karena faktor nutrisi maupun genetik akan menyebabkan kadar LDL dalam plasma meningkat yang dapat mengakibatkan resiko terjadinya aterosklerosis meningkat. Partikel LDL normal tidak menginduksi perubahan sel, tetapi perubahan yang dapat terjadi pada LDL misalnya karena proses oksidasi, dapat menyebabkan LDL yang teroksidasi akan ditangkap oleh skavenger reseptor bukan oleh reseptor LDL. Reseptor LDL dapat ditemukan pada semua sel, tetapi yang paling penting adalah hati dimana sebagian besar LDL kolesterol di metabolisme. Kolesterol bebas dalam hati dapat dirubah menjadi asam empedu dan ekskresi kolesterol terbanyak melalui empedu.^{14,28}

Diet kolesterol dan asam lemak jenuh dapat menurunkan reseptor LDL dimana peningkatan kolesterol intrasel yang berasal dari lipoprotein darah menurunkan pembentukan kolesterol dalam sel, merangsang penyimpanan kolesterol sebagai ester kolesterol, akan memberikan tanda pada sel hati untuk menghambat transkripsi gen reseptor LDL, sehingga akan sedikit reseptor LDL yang disintesis akibatnya kadar LDL dalam sirkulasi akan meningkat.²⁸

II. 3. HDL (High Density Lipoprotein)

Disintesis dalam bentuk imatur dihati dan usus, setelah disekresikan dalam darah akan mengalami perubahan akibat berinteraksi dengan kilomikron dan VLDL. Dengan kedua lipoprotein ini HDL akan saling bertukar protein dan lemak. HDL juga menyerap kolesterol dari permukaan sel dan dari lipoprotein lain dan mengubahnya menjadi ester kolesterol yang akan diangkut kehati, sehingga HDL dikatakan berperan dalam transport kolesterol terbalik (reverse cholesterol transport)²

HDL memindahkan apoC_{II} dan apo E kekilomikron dan VLDL dimana apo CII akan merangsang penguraian triasil gliserol dalam kilomikron dan VLDL dengan mengaktifkan lipoprotein lipase. Apo E berfungsi sebagai ligan untuk reseptor membran sel dihati yang berperan dalam penyerapan kilomikron dan IDL.^{18,28}

III. Radikal bebas

III.1. Proses pembentukan radikal bebas

Radikal bebas mempunyai jumlah elektron ganjil dengan single unpaired electron pada lingkaran luarnya. Elektron yang tidak berpasangan ini menyebabkan

instabilitas dan bersifat reaktif. Dengan hilangnya atau bertambahnya satu elektron pada molekul lain akan menyebabkan terjadinya radikal bebas baru dan mengakibatkan perubahan dramatis secara fisik dan kimiawi.

Radikal bebas secara terus menerus dibuat oleh tubuh kita melalui :

1. Super oksida: dibentuk secara tidak sengaja dengan menambahkan satu elektron pada molekul oksigen, banyak molekul dalam tubuh bereaksi langsung dengan oksigen membentuk superoksida, misalnya: katekolamin, tetrahidrofolat, superoksida jenis ini tidak bisa dicegah.

Radikal oksigen adalah oksigen atau molekul yang mengandung oksigen dengan elektron yang tidak berpasangan yang mudah bereaksi dengan molekul lain dan dapat menyebabkan bahaya bagi tubuh sendiri. Radikal oksigen dapat menyebabkan kerusakan melalui beberapa jalan yaitu : menyerang asam lemak tidak jenuh ganda yang merupakan komponen penting dalam membran sel , bereaksi dengan enzim dalam sel sehingga mengganggu fungsi normal sel, ikut dalam proses modifikasi lipoprotein yang dapat menyebabkan aterosklerosis. ⁽¹⁸⁾

2. Proses fagositosis, akan menghasilkan sejumlah besar superoksida sebagai bagian dari mekanisme untuk membunuh mikroorganisme asing. Pada inflamasi yang kronis mekanisme ini akan bersifat merusak. ^(3,9,12,18)
3. Sebagai reaksi terhadap radiasi sinar ultraviolet, polusi lingkungan, merokok, olahraga yang berlebihan, iskemia/reperfusi, makanan, alkohol, obat anti kanker . Radiasi elektromagnetik dengan panjang gelombang rendah (mis. sinar gamma) dapat memecah air dalam tubuh kita untuk menghasilkan gugus hidroksil (OH^\bullet),

yang dapat menyerang molekul yang berdekatan dan dapat menimbulkan reaksi berantai. Radikal bebas termasuk radikal oksigen dapat dicegah dengan beberapa cara yaitu : menghambat produksi radikal bebas, membersihkan atau menetralkan radikal bebas yang sudah terbentuk, dan menghambat reaksi radikal bebas yang lain.^{3,9,12,18}

Pada sel karyotik mitokondria merupakan sumber utama produksi radikal bebas endogen.²⁶

Keracunan logam berat dapat juga membentuk radikal bebas misalnya, keracunan iron, cadmium, arsenic, mercury dll yang merusak membran makromolekul, mengikat gugus sulfhidril, sehingga merubah fungsi banyak enzim dan antioksidan non enzim seperti glutathion.

III.2. Sistem antioksidan dalam tubuh

Terdapat tiga kelompok anti oksidan dalam tubuh :

1. Anti oksidan primer, bekerja dengan mencegah pembentukan radikal bebas baru dengan mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang tidak toksik sebelum radikal bebas tersebut mempunyai kesempatan untuk bereaksi, atau dengan mencegah pembentukan radikal bebas baru dari molekul lain. Contoh antioksidan ini adalah : superoksida dismutase (SOD), Glutathione peroksidase (GPx), protein pengikat logam (ferritin, ceruloplasmin). Anti oksidan primer bersifat sebagai pemutus reaksi berantai yang dapat bereaksi dengan radikal lipida dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Suatu molekul dapat

bereaksi sebagai antioksidan primer jika dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada radikal lipida dan jika yang berasal dari radikal antioksidan ini lebih stabil daripada radikal lipidanya.^(11,12)

2. Antioksidan sekunder, bekerja dengan menangkap radikal bebas, dan mencegah terjadinya reaksi berantai. misalnya : vitamin E, vitamin C, beta karoten, asam urat, bilirubin, dan albumin.
3. Antioksidan tertier, bekerja dengan memperbaiki kerusakan biomolekuler yang terjadi karena radikal bebas, misalnya : enzim yang memperbaiki DNA dan metionin sulfoksida reduktase.

IV. Vitamin E (α - tokoferol)

Vitamin E merupakan baris pertama pertahanan terhadap proses peroksidasi asam lemak tidak jenuh ganda (PUFA) yang terdapat didalam fosfolipid membran seluler dan subseluler. Fosfolipid pada mitokondria, retikulum endoplasma serta membran plasma mempunyai afinitas terhadap vitamin E . dan tampaknya vitamin E banyak terkonsentrasi pada tempat-tempat ini.¹⁷

Vitamin E merupakan senyawa fenolik dan seperti senyawa fenolik lainnya dapat menangkap radikal bebas, merupakan antioksidan yang larut dalam lemak yang terdapat dalam membran sel dimana vitamin ini mereduksi radikal bebas lipid lebih cepat daripada oksigen. Vitamin E juga terdapat dalam lipoprotein yang ada dalam sirkulasi. Vitamin E bereaksi dengan radikal bebas lipidik membran membentuk vitamin E radikal yang sedikit reaktif yang memutus propagasi dari reaksi berantai

radikal. Vitamin E radikal akan mengalami regenerasi dengan adanya vitamin C atau glutathion.^{11,16} Vitamin E sangat reaktif terhadap radikal peroksil yang merupakan aktivitas antioksidan dan dipercaya merupakan fungsi biokimiawi utama dari vitamin E. Reaksi ini yang mendasari pemikiran Tappel bahwa vitamin E merupakan antioksidan *in vivo* yang melindungi jaringan lemak dari serangan radikal bebas.⁹ Taber dan Kayden memperlihatkan bahwa LDL yang mengandung vitamin E lebih mudah ditangkap oleh fibroblas dengan aktivitas reseptor.¹⁹

Gangguan absorpsi lemak akan menimbulkan defisiensi vitamin E karena tokoferol ternyata larut dalam lemak makanan dan dibebaskan serta diserap selama proses pencernaan lemak. Vitamin E akan diangkut dalam darah oleh lipoprotein, pertama melalui penyatuan kedalam kilomikron yang mendistribusikan vitamin E ke jaringan yang mengandung lipoprotein lipase kemudian ke hati dalam bentuk fragmen sisa kilomikron. Kedua melalui pengeluaran dari dalam hati didalam bentuk lipoprotein berdensitas sangat rendah (VLDL). Vitamin E disimpan dalam jaringan adiposa.¹⁷

Pemutusan propagasi reaksi rantai oleh vitamin E



Regenerasi vitamin E :

- asam askorbat (AA)



- glutathion



Vitamin E juga bersifat memodulasi aktifitas protein kinase C, yang merupakan intermediet dalam proses transduksi signal faktor pertumbuhan , sambil menurunkan aktifitas protein kinase C, vitamin E mempunyai sifat antiproliferatif pada beberapa sel tumor dalam kultur. Kebutuhan vitamin E bervariasi sesuai dengan kualitas asam lemak, peningkatan konsumsi asam lemak omega-3 menaikkan peroksidasi lipid, sehingga kebutuhan vitamin E sebagai anti oksidan akan meningkat. Sumber vitamin E dapat berasal dari makanan nabati terutama biji-bijian, gandum, minyak biji bunga matahari, minyak jagung, minyak kedelai maupun dari sumber makanan hewani seperti daging, ikan. Minyak ikan merupakan sumber vitamin A dan D namun kandungan vitamin E tidak berarti ^{3,17}

Defisiensi vitamin E dapat ditemukan pada keadaan yang berkaitan dengan disfungsi dari proses penyerapan maupun penyimpanannya, misalnya pada keadaan steatore kronis, abetalipoproteinemia, penyakit hepar kolestatik, kistik fibrosis, dan pada pasien yang mengalami operasi reseksi usus. Suplementasi vitamin E mungkin diperlukan dalam diet ibu hamil serta menyusui dan bayi baru lahir dimana anemia dapat disebabkan karena insufisiensi vitamin E. Kebutuhan akan vitamin E meningkat bersamaan dengan semakin besarnya asupan asam lemak tak jenuh ganda. Asupan minyak mineral, pajanan oksigen, dan penyakit yang dapat mengganggu penyerapan lemak dapat menyebabkan defisiensi vitamin E. ¹⁷. Menurut Widya

Karya Pangan dan Gizi 1994 kebutuhan perhari untuk vitamin E : 8mg untuk wanita dan 10 mg untuk laki-laki RRR α -tokoferol, atau RRR α -tokoferol equivalen.¹⁹

V. Vitamin C (Asam askorbat).

Asam askorbat memiliki struktur yang sangat mirip dengan glukosa dan pada sebagian besar mamalia asam askorbat berasal dari glukosa. Namun pada primata termasuk manusia dan sejumlah hewan lainnya misalnya, marmut, sebagian kelelawar, burung, ikan serta invertebrata tidak memiliki enzim L-gulonolakton oksidase akan menghalangi sintesis ini sehingga tidak bisa mensintesis vitamin C dari glukosa.¹⁸

Vitamin C berfungsi sebagai donor ekivalen pereduksi, asam askorbat dioksidasi menjadi asam dehidroaskorbat. Asam askorbat merupakan zat pereduksi dengan potensial hidrogen sebesar + 0,08 V, sehingga membuatnya mampu untuk mereduksi senyawa seperti oksigen, nitrat dan sitokrom a serta c. Mekanisme kerja asam askorbat masih banyak yang belum diketahui, dalam beberapa proses tidak berpartisipasi langsung tetapi diperlukan untuk mempertahankan kofaktor logam dalam keadaan tereduksi misalnya Cu^+ dalam enzim monooksigenase dan Fe^{2+} dalam enzim dioksigenase.¹⁸

Asam askorbat (AA) merupakan anti oksidan alamiah yang terdapat dalam sayuran dan berbagai jenis buah-buahan, yang sering mengalami kerusakan dalam proses pemasakan sampai sedikitnya setengah dari kandungan vitamin C nya. Vitamin C bersifat larut dalam air sehingga merupakan antioksidan utama dalam

plasma terhadap serangan radikal bebas (ROS) dan juga berperan dalam sel. Asam askorbat dapat menjadi donor elektron untuk radikal bebas seperti hidroksil dan superoksida.^{12,18}

Asam askorbat terdapat dalam dua bentuk yaitu bentuk tereduksi yang banyak terdapat dalam keadaan normal (80%) dari vitamin C dalam sirkulasi, dan bentuk teroksidasi yang meningkat pada kasus patologis misalnya pada artritis reumatoid. Asam askorbat menangkap secara efektif radikal superoksida maupun singlet oksigen, dan dapat memutuskan reaksi radikal yang dihasilkan melalui lipidoperoksidasi. Pada konsentrasi rendah asam ini bereaksi secara langsung pada fase cair dengan radikal peroksil LOO^\bullet dan berubah menjadi askorbil yang sedikit reaktif. Pada konsentrasi tinggi asam ini tidak bereaksi, asam askorbat ini juga dapat meregenerasi vitamin E dalam perannya sebagai anti oksidan.^{5,13,19}

Asam askorbat dapat pula berperan sebagai prooksidan, dengan meningkatkan penyerapan zat besi diusus dan dapat mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} yang berfungsi pada reaksi Fenton. Dengan adanya metal transisi vitamin C dapat melakukan otooksidasi dan mempercepat otooksidasi asam lemak tidak jenuh ganda.¹³ Vitamin C juga berfungsi sebagai cadangan untuk perlindungan terhadap proses oksidasi yang bekerja pada fasa cair dan dapat diregenerasi secara *invivo*. Vitamin C mudah diubah menjadi bentuk tereduksi lagi dengan donor elektron dari glutathion dan NADPH. Vitamin C efektif untuk membersihkan radikal hidroksil, peroksil, dan superoksida, melindungi plasma lipid dan LDL. Vitamin C melindungi peroksidasi lipid dengan membersihkan radikal peroksil pada fase cair sebelum menginisiasi peroksidasi lipid

dan dengan regenerasi bentuk aktif Vitamin E yang merupakan antioksidan yang larut dalam lemak.¹⁹

Beberapa proses yang melibatkan vitamin C antara lain sintesis kolagen , penguraian tirosin, sintesis epinefrin dari tirosin, pembentukan asam empedu, penyerapan besi , kortek adrenal mengandung sejumlah besar vitamin C yang dengan cepat akan terpakai habis kalau kelenjar tersebut dirangsang oleh hormon adrenokortikotropik, vitamin C juga bertindak sebagai antioksidan yang larut dalam air dan dapat menghambat pembentukan nitrosamin selama proses pencernaan berlangsung.¹⁸

Kadar vitamin C yang tinggi pada mata akan melindungi terhadap radikal bebas pada cairan okuler dan jaringan termasuk lensa, kornea, dan retina. Kadar yang tinggi pada netrofil akan melindungi sel dan jaringan selama proses respirasi yang menghasilkan oksida reaktif dan radikal bebas. Vitamin C juga berfungsi untuk melindungi terhadap stres oksidatif pada protein sperma yang berhubungan dengan aglutinasi dan penurunan kesuburan pada pria. Sebagai antioksidan intrasel vitamin C berperan penting untuk melindungi DNA dari bahaya oksidasi yang berhubungan dengan mutagenesis dan inisiasi dari proses karsinogenesis. Vitamin C juga bisa berperan sebagai anti oksidan sekunder dengan mempertahankan glutathione tereduksi sebagai antioksidan seluler yang penting.¹⁹

Penyakit skorbut merupakan sindrom klasik defisiensi vitamin C yang berhubungan dengan gangguan sintesis kolagen yang diperlihatkan dalam bentuk perdarahan subkutan dan perdarahan lainnya , kelemahan otot, gusi membengkak dan

lunak, dan tanggalnya gigi. Penyakit skorbut dapat disembuhkan dengan memakan buah dan sayuran segar.¹⁸

Vitamin C diserap usus dan kemudian dikonversi menjadi dehidro asam askorbat (DHAA) yang lebih mudah melewati membran sel. Setelah sampai epitel usus atau sel jaringan DHAA direduksi kembali menjadi asam askorbat. 70%-90% vitamin C yang terdapat dalam diet sehari-hari diabsorpsi. Kebutuhan vitamin C untuk perlindungan terhadap penyakit skorbut 5-10mg/hari. '*Current world wide*' merekomendasikan intake vitamin C/hari 30-100mg, sedangkan Widya karya pangan dan gizi 1994 adalah 100mg/hari untuk dewasa laki-laki dan wanita. Pada perokok kadar vitamin C plasma dan lekosit lebih rendah dibanding dengan bukan perokok baik laki-laki maupun wanita, hal ini mungkin karena metabolisme vitamin C meningkat disebabkan karena stres oksidatif pada perokok.¹⁸

Makanan yang banyak mengandung vitamin C antara lain :kismis hitam, brokoli, bunga kol, strawberi, lemon, kubis, bayam segar, buah anggur, jambu batu, jeruk lemon, jeruk *orange* nanas, mangga, cabe hijau, lobak, hati, ginjal, kentang, tomat, kacang buncis, pisang, apel, susu sapi, daging sapi.¹⁹

VI. Hubungan antioksidan dengan aterosklerosis pada penelitian

binatang .

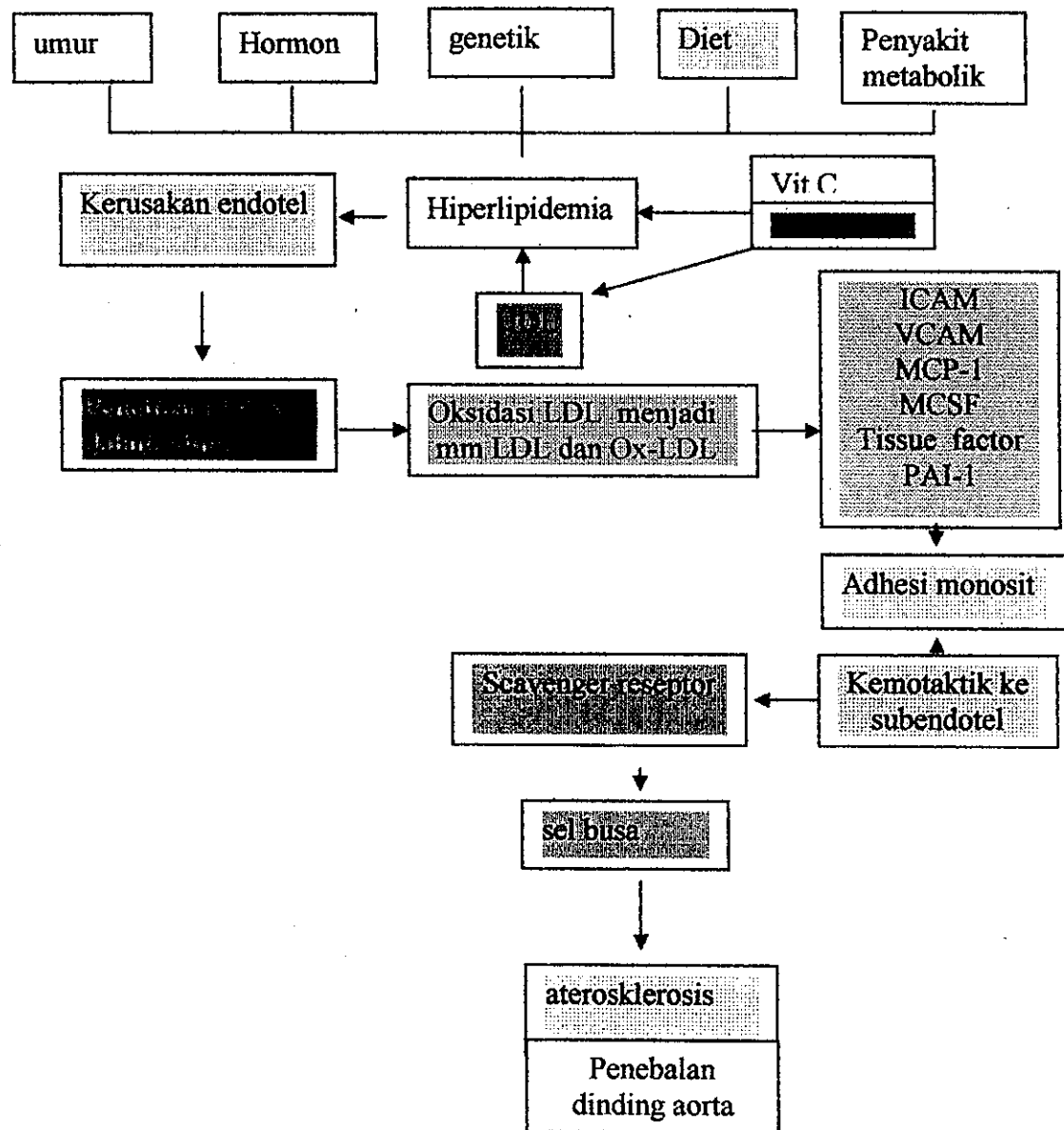
Lebih dari 12 penelitian pada binatang yang menghubungkan antioksidan dengan aterosklerosis. Tiga percobaan pada kelinci, monyet dan ayam dilaporkan terjadinya penurunan lesi ateroma pada binatang yang mendapatkan diet vitamin E dibandingkan dengan kontrol. Pada ayam yang dihambat ovulasi terjadi peningkatan kadar lemak darah dan penebalan intima arteri. Dibandingkan dengan kontrol binatang yang mendapatkan tambahan vitamin E 1000 mg/kg pakan terjadi penurunan kadar peroksida plasma dan dinding arteri kurang mengalami penebalan. Wojcicki melaporkan secara statistik terjadi penurunan yang signifikan 25% kelinci yang mendapat tambahan vitamin E 10 mg/kg/hari mengalami penurunan lesi aterosklerotik dibandingkan dengan kontrol. Verlangieri melaporkan terjadi penurunan lesi pada 54% pada monyet yang mendapat 108 IU vitamin E/hari dibanding kontrol.⁴

Kekurangan vitamin C menyebabkan lesi aterosklerotik pada marmot dan lesi ini akan membaik pada lesi awal aterosklerotik setelah pemberian vitamin C. Altman melaporkan penundaan progresifitas lesi aterosklerotik, dan ada kasus yang mengalami perbaikan lesi aterosklerotik pada tikus hiperkolesterolemi yang mendapat suplementasi vitamin C.⁴

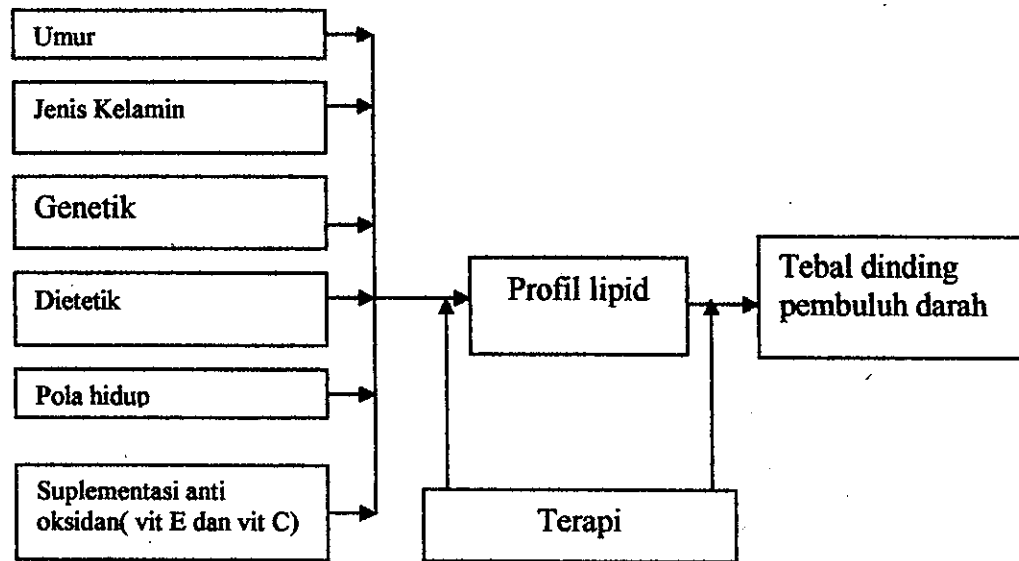
Pada penelitian tentang efek vitamin E pada oksidasi LDL menunjukkan bahwa pemberian vitamin E 40uM menghambat oksidasi LDL sebagian dan tidak sekuat vitamin C. Pada penelitian ini vitamin E menurunkan *uptake* LDL teroksidasi oleh makrofag sebanyak 45 % . Esterbauer dkk melaporkan bahwa suplementasi vitamin E pada LDL yang diisolasi akan memperkaya kandungan vitamin E dalam LDL.⁵

Penelitian yang dilakukan oleh Prasetyo, dkk pada tikus wistar jantan umur 40 minggu yang diberi diet kuning telur intermitten dengan dosis 10 gram/ tikus/hari selama 30 hari dapat menimbulkan penebalan pada tunika intima arteri abdominalis.⁸ Contantinides mendapatkan penebalan arteri pada percobaan tikus dengan kadar kolesterol lebih dari 500 mg/dl selama 2 bulan.¹⁰

Kerangka teori terjadinya aterosklerosis :

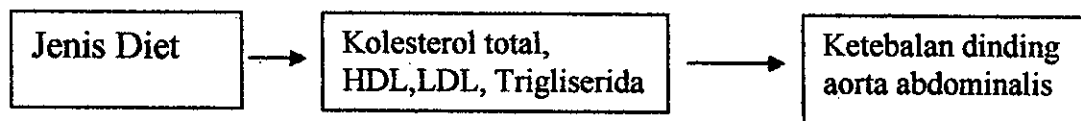


Kerangka teori penelitian



Kerangka konsep penelitian:

Karena umur, jenis kelamin dan genetika dari tikus Wistar sudah disamakan, pola hidup dan dietetik tikus dikendalikan dengan perlakuan yang sama, maka dari kerangka teori penelitian diatas dapat disusun kerangka konsep sebagai berikut :



HIPOTESIS

1. Kadar kolesterol total kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C lebih rendah dibanding dengan kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol tanpa suplementasi.
2. Kadar LDL kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C lebih rendah dibanding dengan kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol saja.
3. Kadar HDL kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C lebih tinggi dibanding dengan kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol saja.
4. Kadar Trigliserida kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C lebih rendah dibanding dengan kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol saja.
5. Dinding aorta abdominalis pada kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C lebih tipis bila dibanding kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol saja.

BAB III

METODA PENELITIAN

3.1 Rancangan penelitian.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan desain *Randomized post-test control group* yang dilakukan dengan rancangan acak lengkap. Perlakuan yang digunakan adalah pemberian diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C

Variabel yang diperiksa adalah profil lipid yang meliputi kadar kolesterol total, LDL, HDL, Trigliserida, dan ketebalan dinding aorta abdominalis.

Jumlah sampel yang digunakan memakai rumus Federer : $(t-1)(n-1) > 15$

Dimana : t : Jumlah perlakuan

n : jumlah sampel

Untuk 3 macam perlakuan diperlukan minimal sampel masing-masing : 9 ekor.

Binatang coba yang digunakan pada penelitian ini 15 ekor tikus jantan galur Wistar yang diperoleh dari pusat pemeliharaan hewan PT Biofarma Bandung, umur 5 bulan, dengan berat badan kurang lebih 200 gram, tampak sehat, tingkah laku normal, dan selama penelitian tikus tidak sakit dan tidak mati. Diberikan pakan standar AIN-93 M dan minum *ad libitum*²⁵

Pembuatan kuning telur dilakukan dengan cara seperti yang dilakukan Prasetyo dkk^{8,25} sebagai berikut :

1. Dipisahkan telur ayam ras menjadi kuning telur dan putih telur
2. Dibuat emulsi kuning telur dengan cara mengocok secara perlahan
3. Ditimbang emulsi kuning telur.

Pemeriksaan sampel dilakukan setelah 30 hari penelitian sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Prasetyo dkk⁸. Lama perlakuan ini setara dengan 34 bulan pada manusia²³. Pemeriksaan yang dilakukan meliputi pemeriksaan kadar kolesterol total, HDL, LDL, trigliserida plasma, dan ketebalan dinding aorta abdominalis.

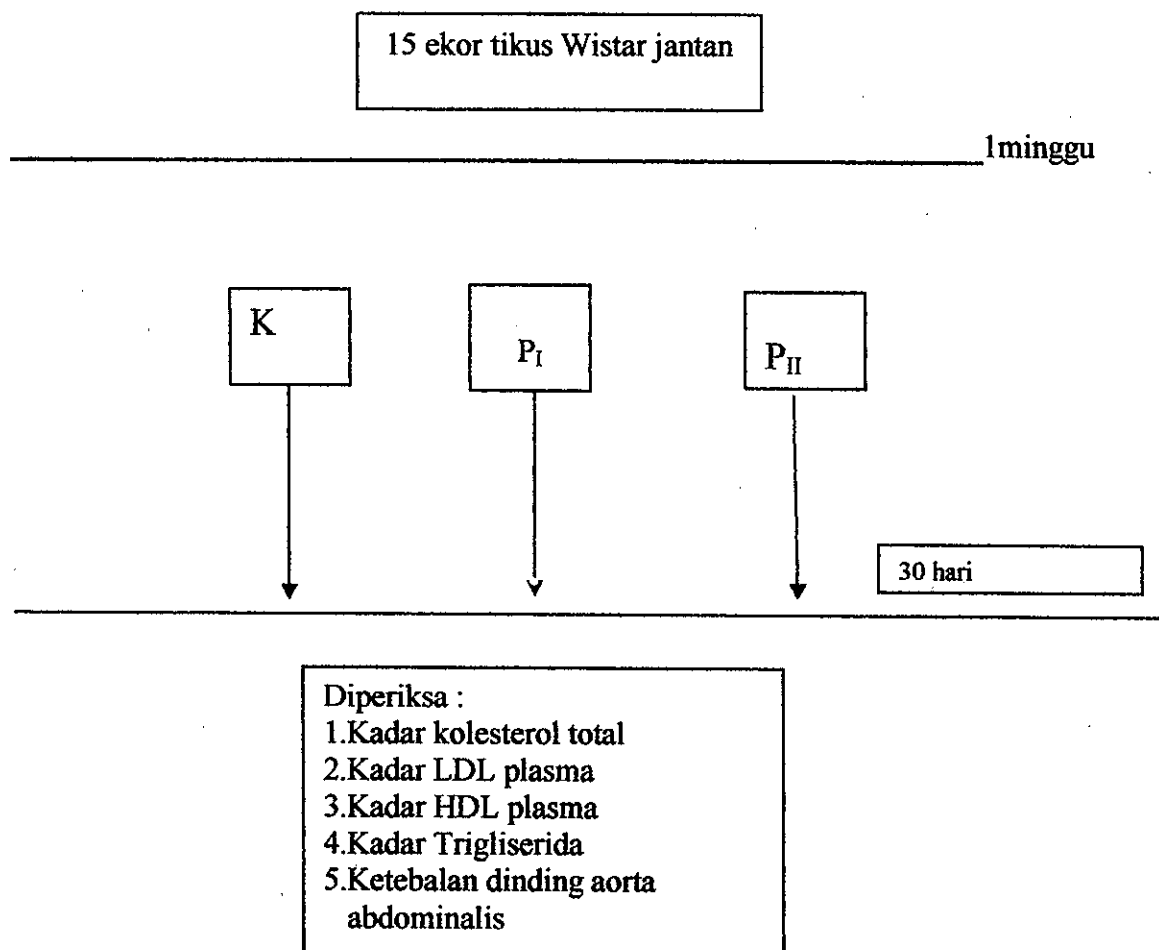
3.2. Variabel penelitian

1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah :

Penambahan vitamin E dengan dosis 4 mg/ hari , sesuai dengan 400 IU pada manusia, dan vitamin C dengan dosis 2 mg/ hari sesuai dengan 100 mg/ hari pada manusia.

2. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah : Kadar kolesterol total, LDL, HDL, Trigliserida, ketebalan dinding aorta abdominalis.

3.3. Skema proses percobaan



Keterangan : K : Diet standar

P_I : Diet standar + diet tinggi kolesterol

P_{II} : Diet standar + diet tinggi kolesterol + vitamin E + vitamin C

Diet tinggi kolesterol terdiri dari : Kuning telur 10 mg/ ekor tiap 2 hari
+ minyak goreng tropical : 0,1 ml/ ekor/ hari

Vitamin E: 4 mg/ ekor/ hari

Vitamin C: 2 mg/ ekor/ hari

3.4. Analisis statistik

Analisis statistik yang digunakan adalah uji non parametrik dengan Mann-Whitney (karena jumlah sampel 7) untuk beda rerata kolesterol total, HDL, LDL, Trigliserida, dan tebal dinding aorta abdominalis antara kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol dan yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C. Uji ini juga digunakan untuk mengetahui perbedaan rerata kadar kolesterol total, HDL, LDL, trigliserida dan tebal dinding aorta antara kelompok yang mendapat diet standar (K) dan yang mendapat diet tinggi kolesterol (P_I).

3.5 Definisi operasional variabel

1. Diet kuning telur : Pemberian kuning telur ayam ras sebanyak 10 gram melalui sonde lambung, setiap 2 hari sekali seperti metode Constantinides.⁸
2. Ketebalan dinding aorta abdominalis adalah ukuran penampang melintang aorta abdominalis dalam mikron sepanjang tunika intima sampai dengan tunika serosa dengan *eye piece morfometer* (ocular micrometer), sesuai metode Tjarta, dengan pengecatan Hematoksilin Eosin (HE). Aorta yang diukur adalah daerah yang mengalami *shear stress* yaitu pada percabangan arteri renalis diperiksa pada 8 lokasi kemudian dirata-rata. Preparat diperiksa oleh peneliti bersama konsultan dari bagian Patologi Anatomi FK Universitas Diponegoro Semarang dan hanya diberi nomor tanpa disebutkan kelompok perlakuannya.

3. Vitamin E : 4 mg/hari sesuai dengan dosis untuk manusia laki-laki dewasa 400 IU/ hari sedikit lebih rendah dari dosis yang mungkin memberikan efek jelek bila diberikan dalam jangka lama pada manusia 500 IU/ hari yang dikonversi pada tikus dan diberikan secara peroral melalui sonde lambung.
4. Vitamin C : 2 mg/ hari sesuai kebutuhan vitamin C manusia laki-laki dewasa 100 mg/ hari yang dikonversi pada tikus diberikan secara peroral melalui sonde lambung.
5. Profil lipid : Kadar kolesterol total dan kadar LDL, HDL, Trigliserida plasma yang diperiksa secara enzimatik dengan spektrofotometer dilaboratorium Setia Husada Semarang.

3.6. Alat dan bahan



3.6.1 Alat

Alat yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah : kandang hewan, timbangan elektronik, Spektrofotometer metertex, tabung reaksi, tabung ependorf, sonde , alat pemroses jaringan dan pengecatan, mikroskop.

3.6.2 Bahan

Binatang yang digunakan dalam penelitian ini adalah : tikus jantan yang diperoleh dari laboratorium Biofarma Bandung umur 5 bulan, sehat, aktivitas dan tingkah laku normal, selama penelitian tidak mati. Pakan tikus standar dan air minum *ad libitum*. Bahan perlakuan : Vitamin E , vitamin C , kuning telur ayam ras , minyak goreng "*Tropical*" sebagai pelarut vitamin E.

3.7. Perlakuan sampel

Pemberian kuning telur diberikan melalui sonde lambung tiap 2 hari sebanyak 10 gram/ ekor. Sedangkan pemberian vitamin E 4 mg/ ekor dan vitamin C 2 mg/ ekor diberikan tiap hari melalui sonde lambung. Untuk vitamin E karena sulit melalui sonde terlebih dulu diencerkan dengan minyak goreng *Tropical* dengan perbandingan 2 ml vitamin E (setara dengan 2 gram vitamin E murni) ditambah 48 ml minyak goreng *Tropical* (pengenceran 25 kali).

3.8. Pemeriksaan sampel

Pemeriksaan sampel dilakukan pada hari ke 30, semua tikus diperiksa profil lipidnya yang meliputi : kadar kolesterol total, HDL , LDL, trigliserida dengan spektrofotometer di laboratorium klinik SETIA HUSADA Semarang. Pengukuran profil lipid darah.

Tehnik pengukuran dan pemeriksaan kadar kolesterol total, HDL, LDL dan trigliserida dilakukan secara enzimatik dengan spektrofotometer. Darah yang dipergunakan diambil dari a.orbitalis dengan cara ekstraksi bulbus oculi, kemudian darah ditampung menggunakan tabung reaksi yang sudah mengandung antikoagulan (EDTA).

Kadar kolesterol ditentukan dengan menggunakan metoda CHOD-PAP(Cholesterol oxydase-phenyl aminopyrazolon), Prinsip dari metoda ini adalah kolesterol dan bentuk esternya dibebaskan dari lipoprotein oleh

deterjen . Selanjutnya bentuk ester dihidrolisis oleh enzim kolesterol esterase. Dengan bantuan enzim kolesterol oksidase, kolesterol akan dioksidasi dan menghasilkan peroksida hidrogen, senyawa ini akan mengubah 4-amino antipirin dan phenol dengan bantuan enzim katalase peroksidase menjadi quinoamin yang berwarna dan intensitasnya dapat diukur secara fotometrik.

Pengukuran kadar HDL dengan metoda CHOD-PAP, yang prinsipnya dengan mengendapkan kolesterol, VLDL, dan LDL dengan reagen pengendap asam fosfotungstat dan ion magnesium . selanjutnya supernatan yang mengandung HDL dipisahkan dengan sentrifuse dan selanjutnya kadar HDL ditetapkan dengan metoda seperti pada pengukuran kadar kolesterol total.

Pengukuran kadar LDL dilakukan dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kolesterol LDL} = \text{kolesterol total} - [\text{kolesterol HDL} + (\text{Trigliserida}/5)]\text{mg/dL}$$

Pengukuran kadar trigliserida ditentukan dengan metoda GPO-PAP (Gliserol Phospatase Oxydase-Phenyl amino pyrazolon). Prinsip dari metoda ini adalah trigilserida dihidrolisis secara enzimatis menjadi gliserol dan asam lemak bebas dengan bantuan enzim lipase. Gliserol bebas akan bereaksi dengan gliserol kinase menjadi gliserol fosfat yang selanjutnya oleh enzim gliserol fosfat oksidase akan diubah menjadi dihidroksi aseton fosfat dan peroksida hidrogen . Peroksida hidrogen akan bereaksi dengan chlorophenol dan 4-amino antipirin membentuk kompleks 4-o-benzoquinone monomine yang berwarna dan dapat diukur intensitas absorbannya.^{29,30}

Pemeriksaan histopatologi yang meliputi pemeriksaan ketebalan dinding aorta abdominalis diperiksa di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro: Preparat yang berasal dari aorta abdominalis tikus pada daerah percabangan a.renalis dicat dengan Hematoksilin eosin, diukur ketebalan dindingnya dari tunika intima sampai tunika adventitia dengan menggunakan okuler mikrometer dengan pembesaran 100 kali, kemudian hasilnya 10 dan satuan dalam mikron.²⁹

Sampai dengan akhir percobaan didapatkan 4 ekor binatang coba yang mati terdiri dari kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol (P_I): 2 ekor, kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C (P_{II}) : 1 ekor, dan kelompok kontrol (K):1 ekor.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

A. Gambaran umum binatang percobaan .

Binatang percobaan dalam penelitian ini adalah tikus jantan dari galur Wistar yang diperoleh dari laboratorium Biofarma Bandung dengan umur 5 bulan, tampak sehat , aktivitas dan tingkah laku normal, selama penelitian tikus tidak mati. Selama percobaan tikus diberikan diet standar AIN-93 M dan minum *ad libitum*.

Binatang percobaan dibagi menjadi 3 kelompok masing-masing 5 ekor tikus Wistar jantan secara acak. Kelompok I hanya diberikan diet standar, kelompok II diberikan diet standar dan diet tinggi kolesterol, kelompok III diberikan diet standar dan diet tinggi kolesterol dan diberikan suplementasi vitamin E dan vitamin C. Pada akhir percobaan didapatkan 4 ekor binatang percobaan yang mati. 2 dari kelompok yang mendapat perlakuan dengan diet tinggi kolesterol (P_1), 1 dari kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol dan 1 dari kelompok kontrol. satu preparat untuk pengukuran tebal dinding aorta pada kelompok kontrol yang rusak sehingga tidak bisa dinilai .

Rerata berat badan tikus kontrol sebelum percobaan : 287 gram dan pada akhir penelitian menjadi: 260 gram (turun 27 gram). Rerata berat badan tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol sebelum penelitian : 270 gram, dan pada akhir penelitian rerata berat badannya : 228 gram (turun 42 gram) . Rerata berat badan tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C

sebelum penelitian : 266 gram pada akhir penelitian rerata berat badannya menjadi : 243 gram (turun 23 gram).

Uji statistik dengan Mann-Whitney pada berat badan tikus sebelum dan sesudah perlakuan didapatkan pada tikus kontrol nilai $p=0,327$, pada kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol didapatkan nilai $p=0,053$, dan pada kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C didapatkan nilai $p=0,215$. walaupun ada penurunan tetapi secara statistik tidak bermakna.

Tabel 1. Rerata dan simpang baku berat badan tikus sebelum dan sesudah penelitian

Kelompok	N	BB awal		BB akhir		Nilai p
		Rerata (gram)	SB	Rerata (gram)	SB	
Kontrol	4	287	54,3	260	21,6	0,327
P _I	3	270	23,9	228	28,4	0,053
P _{II}	4	266	22,4	243	39,5	0,215

B. Perubahan Profil lipid

Pemeriksaan profil lipid yang dilakukan meliputi kadar kolesterol total, kolesterol HDL, kolesterol LDL, dan trigliserida. Pemeriksaan dilakukan pada kelompok tikus yang mendapat diet standar (K), diet tinggi kolesterol (P_I), dan kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C (P_{II})

Data yang diperoleh diuji dengan menggunakan uji non parametrik dengan Mann-Whitney. Hasil analisis dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata dan simpang baku profil lipid serta hasil uji beda pada 3 kelompok yang mendapat diet yang berbeda.

Kelompok	N	Kolesterol total (mg%)		HDL (mg%)		LDL (mg %)		Trigliserida (mg %)	
		Rerata	SB	Rerata	SB	Rerata	SB	Rerata	SB
K	4	124	(16,3)	47	(4,2)	57	(9,5)	100	(25,7)
P _I	3	107	(22,2)	38	(7,6)	40	(14,2)	147	(2,0)
P _{II}	4	97	(4,3)	38	(4,0)	30	(3,7)	149	(5,9)
$p (P_I \text{ vs } P_{II})$		0.724		0.724		0.368		0.724	
$P (P_I \text{ vs } K)$		0.289		0.108		0.157		0.034	

K : kelompok tikus yang mendapat diet standar

P_I : kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol

P_{II} : kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C

4.1. Kadar kolesterol total

Rerata kadar kolesterol total pada tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C (97mg%) lebih rendah bila dibanding kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol (107 mg%), namun pada uji statistik didapatkan nilai p : 0.724 jadi secara statistik perbedaan yang ada tidak bermakna.

4.2. Kadar HDL plasma

Rerata kadar HDL pada kelompok tikus yang mendapat perlakuan dengan diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C sama dengan kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol (38 mg%) hanya berbeda pada nilai

simpang baku, setelah dilakukan uji statistik didapatkan nilai p : 0.724 sehingga secara statistik tidak ada perbedaan yang bermakna.

4.3. Kadar kolesterol LDL

Rerata kadar kolesterol LDL pada kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C lebih rendah (30 mg%) bila dibanding dengan yang mendapat diet tinggi kolesterol (40 mg%). Setelah diuji statistik tidak ada beda yang bermakna ($p=0.368$).

4.4. Kadar trigliserida

Rerata kadar trigliserida kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C lebih tinggi (149 mg%) dibanding dengan yang mendapat diet tinggi kolesterol (147mg%). Setelah diuji statistik tidak didapatkan perbedaan yang bermakna ($p = 0.724$).

4.5. Tebal dinding aorta

Tebal dinding aorta yang diukur dengan menggunakan okuler mikrometer pada daerah percabangan a. renalis dilakukan pada kelompok tikus yang mendapat diet standar (K), diet tinggi kolesterol (P_I), dan yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C (P_{II}) selama 4 minggu. Hasil yang didapatkan diuji statistik antara K dengan P_I dan P_I dengan P_{II} . Hasilnya dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rerata dan simpang baku serta nilai p ketebalan dinding aorta abdominalis pada kelompok tikus yang mendapat diet berbeda.

Kelompok	N	Tebal dinding aorta (mikron)	
		Rerata	SB
K	3	71	(7,5)
P _I	3	137	(37,2)
P _{II}	4	119	(26,9)
$p (P_I \text{ vs } P_{II})$		0.157	
$p (P_I \text{ vs } K)$		0.050	

Rerata tebal dinding aorta kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol + vitamin E + vitamin C lebih tipis (119 mikron) bila dibanding dengan yang mendapat tinggi kolesterol (137 mikron). Setelah dilakukan uji statistik ternyata didapatkan hasil p : 0.157 sehingga secara statistik tidak didapatkan beda yang bermakna.

Bila dibandingkan antara kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol dan kelompok kontrol yang hanya mendapat diet standar saja kadar kolesterol total, HDL, dan LDL tidak ada perbedaan yang bermakna sedangkan kadar trigliserida dan tebal dinding aorta abdominalisnya yang didapatkan perbedaan bermakna dengan nilai p : 0.034 pada trigliserida dan p : 0.05 pada tebal dinding aorta.

Rerata tebal dinding aorta kelompok yang mendapat diet standar saja tanpa perlakuan lain (K) paling tipis bila dibandingkan dengan yang mendapat diet tinggi kolesterol maupun yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E

dan vitamin C, sedangkan rerata ketebalan dinding aorta abdominalis pada kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol paling tebal.

BAB V

PEMBAHASAN

Aterogenesis merupakan proses yang multifaktorial, adanya beberapa stressor yang mendahului telah banyak diketahui sebelumnya antara lain teori radikal bebas yang menyebabkan terjadinya oksidasi pada LDL yang akhirnya ditangkap oleh *scavenger reseptor* dan akan terbentuk sel busa yang merupakan awal dari proses aterosklerosis.

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian terdahulu yang telah dilakukan oleh Prasetyo⁸ yang meneliti profil lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus wistar jantan yang diberi suntikan adrenalin dan diet kuning telur intermitten selama 2 minggu, dimana hasil kolesterol total pada kelompok yang hanya mendapat diet standar : 192,5mg%, LDL : 106 mg%, HDL : 50,5 mg%,trigliserida : 223 mg%. dan ketebalan dinding aorta : 68 mikron. Pada penelitian ini kadar kolesterol total 124 mg%, LDL 57 mg% HDL : 47mg%, trigliserida : 100 mg%, tebal dinding aorta abdominalis 71 mikron. Perbedaan ini mungkin karena kadar kolesterol dalam kuning telur yang dipakai tidak sama, mengingat sebelumnya tidak dilakukan pengukuran kadar kolesterol dalam kuning telur. Menurut penelitian Kong-Jeng Ho th 1976¹⁵ kadar kolesterol kuning telur ayam ras 732 mg/100 g sedang penelitian Budi Tangenjaya, Sutikno dan Suhendar¹⁵ dalam laporan penelitian LPPT Ciawi, Bogor 1993 kadar kolesterol kuning telur ayam ras 290 mg/ 100g (dengan ekstraksi petroleum eter) dan 699 mg/100 g

(dengan ekstraksi kloroform-metanol dengan perbandingan 2:1), sedangkan Saidin menemukan kadar kolesterol kuning telur ayam ras 485. mg/100 g ¹⁵ . Dari beberapa penelitian tersebut nampak adanya variasi kadar kolesterol dalam telur ayam.

Umur sampel juga berpengaruh pada hasil penelitian dimana pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah tikus Wistar jantan dengan umur 5 bulan yang lebih muda dibanding dengan umur sampel pada penelitian Prasetyo dkk^{8,25,29} yang menggunakan tikus Wistar jantan berumur 10 bulan. Ada beberapa teori yang mengkaitkan umur dengan penuaan antara lain :

1. Teori apoptosis: Teori ini menyebutkan bahwa sel mempunyai program yang disebut program kematian sel. Jadi sel-sel tubuh telah diprogram untuk membunuh dirinya sendiri bila lingkungan berubah. Hormon insulin, *insulin like growth factors (IGFs)* dan beberapa *growth factors* lain akan menghambat proses apoptosis pada berbagai macam sel dan jaringan. dengan meningkatnya umur akan terjadi pengurangan produksi growth hormon dan insulin , kondisi ini akan menurunkan kemampuan tubuh untuk menghambat proses apoptosis. Penurunan kadar insulin juga akan menyebabkan peningkatan lipolisis yang akan meningkatkan kadar kolesterol dalam darah³³ .
2. Teori penuaan hormonal : Teori ini menyatakan bahwa dengan bertambahnya umur akan terjadi penurunan aktivitas dan konsentrasi berbagai hormon tubuh, misalnya growth hormon, testosteron, dehidroepiandrosteron (DHEA), melatonin dll. Penurunan aktivitas hormon ini juga akan menyebabkan kolesterol yang merupakan bahan untuk pembentuk beberapa hormon akan

meningkat karena penggunaannya yang berkurang akibatnya kadar dalam darah akan meningkat juga. Hormon juga mempunyai peran yang sangat kompleks pada berbagai fungsi sel tubuh, akibatnya penurunan hormon ini juga akan menurunkan fungsi sel dan tubuh secara keseluruhan³³.

3. Teori telomere : Teori ini menyatakan bahwa pembelahan DNA terjadi pada satu arah, dan setiap kali terjadi pelepasan DNA setelah duplikasi akan terjadi perlukaan pada ujungnya sehingga akan terjadi pemendekan. Sel yang tua tetap melaksanakan metabolisme tetapi tidak lagi membelah dan ekspresi gennya akan berkurang sehingga menyebabkan berbagai penyakit degeneratif pada usia tua³³.
4. Teori genetik: Teori ini menyatakan bahwa program kehidupan telah ditentukan dan jam genetik akan membatasi panjangnya umur suatu spesies. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa sel hanya mampu membelah kurang dari 100 kali diluar tubuh. Teori ini menekankan bahwa penuaan adalah suatu proses aktif, sel yang telah habis masa membelahnya akan berhenti berhenti pada fase G1 dalam siklus sel. Sel ini secara metabolik akan tetap mempertahankan kehidupan sel secara minimal, tetapi tidak mampu lagi untuk mensintesa DNA baru³³.

Penelitian sebelumnya tentang Pengaruh pemberian vitamin E terhadap fraksi lipid serum tikus hiperkolesterolemik yang dilakukan oleh Kusmiyati, bahwa vitamin E yang diberikan dapat menurunkan kadar kolesterol total secara bermakna pada tikus hiperkolesterolemik dengan dosis 100 mg/kgBB/hari, 500 mg/kgBB/hari,

dan 1000 mg/kgBB/hari. Kadar LDL turun secara bermakna pada tikus yang mendapat diet vitamin E 1000mg/kgBB/hari. Kadar HDL meningkat secara bermakna pada tikus yang mendapat suplementasi vitamin E 100 mg/kgBB/hari, 500 mg/kgBB/hari, dan 1000 mg/kgBB/hari. Kadar trigliserida turun secara sangat bermakna pada kelompok yang mendapat suplementasi vitamin E 500 mg/kgBB/hari, dan 1000 mg/kgBB/hari.

Perbedaan hasil penelitian Kusmiyati dengan penelitian ini mungkin disebabkan karena perbedaan dosis vitamin E yang diberikan. Alasan penggunaan dosis lazim pada manusia dalam penelitian ini adalah adanya bahaya yang mungkin timbul pada penggunaan vitamin E dosis tinggi, karena vitamin E yang dikonsumsi dalam waktu lama memungkinkan memberikan efek samping pada penggunaan lebih dari 400 IU/ hari. (1mg vit E=1,49 IU)³¹.

Pada kelompok kontrol yang hanya mendapat diet standar saja tidak mendapat perlakuan lain termasuk pemakaian sonde yang memungkinkan terjadinya *stress*, ketebalan dinding aorta abdominalisnya paling tipis dibanding yang mendapat diet tinggi kolesterol maupun yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C. Fenomena ini sesuai dengan teori bahwa pada kadar kolesterol normal dapat terjadi aterosklerosis bila ada stresor lain. Jarang terjadi aterosklerosis pada kadar kolesterol < 150 mg% apabila tidak ada faktor yang lain¹⁰. Penggunaan sonde lambung memungkinkan timbulnya *stress* yang akan memacu sekresi hormon adrenalin yang berakibat terjadinya lipolisis maupun memacu terjadinya kerusakan endotel pembuluh darah yang akan memudahkan terjadinya

aterosklerosis yang dapat diukur sebagai penebalan dinding aorta abdominalis. Hal ini sesuai dengan penelitian injeksi inisial adrenalin pada tikus yang mendapat diet kuning telur intermitten mengakibatkan terjadinya penebalan pada dinding aorta abdominalis.^{8,25}

Kadar trigliserida pada penelitian ini ditemukan tinggi pada kelompok yang mendapat perlakuan dengan diet tinggi kolesterol maupun diet tinggi kolesterol yang mendapat suplementasi dengan vitamin E dan C, disebabkan pada diet tinggi kolesterol ditambahkan minyak yang merupakan sumber energi, hal ini akan meningkatkan cadangan lemak dalam bentuk trigliserida¹⁸.

Kadar kolesterol total yang tinggi pada kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok yang mendapat perlakuan dengan diet tinggi kolesterol mungkin disebabkan karena fungsi hati sebagai regulator kolesterol dalam darah masih optimal sehingga kelebihan kolesterol yang ada pada diet dapat ditangkap oleh hati dan kemudian digunakan dalam siklus *enterohepatik* sehingga sintesa kolesterol oleh hati turun maupun dibuang melalui feses sebagai garam empedu.¹⁸

Penurunan berat badan pada kelompok tikus yang mendapat diet tinggi kolesterol mungkin disebabkan karena bahan yang digunakan mengandung minyak yang akan menyumbangkan sejumlah energi (9 kalori / gram) akan mengurangi nafsu makan tikus.

Keterbatasan penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yaitu :

1. Jumlah sampel yang kurang sehingga meningkatkan bias dalam pengambilan kesimpulan.
2. Tidak memungkinkan untuk membuat desain penelitian dengan pretes, karena akan menyebabkan kematian binatang coba.
3. Makanan diberikan *ad libitum* sehingga memungkinkan tikus yang diberi perlakuan dengan menggunakan sonde tidak mengkonsumsi makanan dengan jumlah yang sama dengan pada kelompok kontrol, karena adanya stress.
4. Kadar kolesterol dalam kuning telur yang ditambahkan pada kelompok perlakuan tidak diukur lebih dulu, hal ini memungkinkan variasi kadar kolesterol dalam tiap dosis yang diberikan.
5. Adanya minyak dalam diet yang digunakan untuk mengencerkan vitamin E akan menyebabkan nafsu makan tikus turun karena minyak mengandung lemak yang merupakan sumber energi.
6. Kadar hormon yang berpengaruh terhadap kadar kolesterol pada binatang coba seperti adrenalin, insulin, glukagon, thyroid, dll tidak diukur lebih dulu sehingga dapat menyebabkan variasi kadar kolesterol darah.
7. Adanya variabel perancu yang tidak dapat disingkirkan yaitu adanya perlakuan dengan menggunakan sonde lambung yang memungkinkan timbulnya stress yang akan mempengaruhi hasil dalam profil lipid karena adanya stress akan memacu

sekresi hormon adrenalin yang berakibat terjadinya lipolisis maupun memacu terjadinya kerusakan endotel pembuluh darah yang akan memudahkan terjadinya aterosklerosis yang diukur bermanifestasi sebagai penebalan dinding aorta abdominalis.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Tidak ditemukan perbedaan yang bermakna kadar Kolesterol total, HDL, LDL, Triglicerida, dan Ketebalan dinding aorta abdominalis pada kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol maupun kelompok yang mendapat diet tinggi kolesterol dan suplementasi vitamin E dan vitamin C.

Saran

1. Penelitian lebih lanjut dengan menggunakan jumlah sampel yang lebih banyak.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut untuk meneliti manfaat vitamin E maupun vitamin C pada dosis yang dianjurkan (RDA) terhadap profil lemak dan ketebalan dinding aorta abdominalis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sargowo D. Peran radikal bebas dalam patogenesis aterosklerosis. Dalam : Kumpulan makalah seminar dan lokakarya Radikal bebas dan patogenesis Penyakit. Fakultas kedokteran Universitas Brawijaya ,Malang, 13-15 maret 1997.
2. Lubis EN. Penyakit jantung koroner pada anak dan pencegahannya. Medika. 2001 Pebruari; 2 :109-13
3. Kumar V, Cotran RS, Robins SL. Blood and vessel. Dalam : Basic pathology sixth edition . Philadelphia. WB. Saunders Co. 1997; 281-307.
4. Langseth L. Oxidants, antioxidants, and disease prevention. ILSI Europe. Belgium, 1995: 1-18.
5. Jialal I, Grundy M. Influence of antioxidant vitamin on LDL Oxidation. In:Beyond deficiency new views on the function and health effect of vitamins. Annals of the New York Academy of Sciences. 1992;669:237-45.
6. Bendich A. Antioxidant micronutrien and immune responses. Dalam: Micronutrients and immune functions. Ed. Adrienne Bendich and Ranjit K. Chandra. Annals of the New York academy of sciences. 1990;587: 168-177.
7. Wijaya A. Oksidasi LDL, aterosklerosis dan anti oksidan. Forum diagnosticum. 1997;3:1-14.
8. Prasetyo A, Sadhana U, Miranti IP. Profil lipid dan ketebalan dinding arteri abdominalis tikus Wistar pada injeksi inisial adrenalin intravena (iv) dan diet kuning telur intermitten (penelitian pendahuluan). Media Medika Indonesiana. 2000; 35;3; 149-57.

9. Sies H, Stahl W, Sundquist AR. Antioxidant functions of vitamins: vitamin E and C, beta caroten, and other carotenoids. Dalam : Beyond deficiency new views on the function and health effect of vitamins. Annals of the New York Academy of Sciences. 1992;669;7-18.
10. Constantinides P. General Pathobiology. Appleton & Lange, USA .1994; 64-5, 89,105.
11. Wijaya A, Kaniawati M. Petanda biokimiawi untuk disfungsi endotel. Forum Diagnosticum. 1999;1;1-4.
12. Nabet FB. Zat gizi anti oksidan penangkal senyawa radikal pangan dalam sistem biologis.Dalam: Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan. Ed. Fransiska Rungkat, dkk.Bogor, 1996:1-20.
13. Thomas G, Ramwell PW. Nitric oxide, donors, & inhibitors. In : Basic & Clinical Pharmacology. Ed.Bertram G. Katzung, seventh edition. a Lange medical book,USA.1998;319-24.
14. Semenkovich CF. Nutrient and genetic regulation of lipoprotein metabolism. Dalam: Modern nutrition in health and disease. 9 th edition . Lippincott Williams &Wilkins. Baltimore,Maryland USA, 1999;1191-7.
15. Saidin M. Kandungan kolesterol dalam berbagai bahan makanan hewani. Buletin Penelitian kesehatan. 1999/2000;27;2;224-9.
16. Lawrence GS. Peranan apoptosis pada patogenesis aterosklerosis. Jurnal medika Nusantara,1999;20;2:162-5.

17. Castelli WP. Lipids, risk factors and ischaemic hearth disease. *Atherosclerosis*, 1996; 124:1-9.
18. Murray RK. Granner DK. Mayes PA. Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*. Twenty fourth edition. 1997, 619-21.
19. Jacob RA. Vitamin C. in: *Modern Nutrition in Health and Diseases*, 9th edition. Lippincot Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland, USA. 1999; 467-81.
20. Chu RP. Free radicals and anti oxidant in athero sclerosis. Dalam: *Simposium Oksidan dan antioksidan*. Surabaya Agustus 1993: 62-76.
21. Sastroasmoro S, Ismael S. *Dasar-dasar metodologi penelitian klinis*. Binarupa aksara, Jakarta. 1995: 179-80.
22. Henry NG, Ira JG. Disorders of intermediary metabolism. Dalam: *Harrison. Principles of internal medicine*, 14 th. 1998 ; 2138-48.
23. Donatus IA, dkk. *Petunjuk Praktikum Toksikologi*. Edisi: I, Lab. Farmasi UGM Yogyakarta. 1992; 21-3.
24. Boedhi-Darmojo, Hadi Martono. *Buku ajar Geriatri (Ilmu Kesehatan Usia Lanjut)*. Balai penerbit Fak. Kedokteran UI Jakarta, edisi ke 2. 2000: 242.
25. Prasetyo A. Pengaruh injeksi inisial adrenalin dan diet kuning telur intermitten terhadap Profil lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar Media Medika Indonesiana. 2003; 38;1; 37-50.
26. Makmun LH. Adakah peran spesifik antioksidans terhadap proses menua jantung?. *PIT Ilmu Penyakit Dalam Tahun 2002*, FK UNPAD Bandung, April 2002

27. Mangkuwijoyo S. Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan hewan percobaan didaerah tropis. Universitas Indonesia Press, 1988 : 39.
28. Dawn BM, Allan DM, Collen MS. Biokimia Kedokteran Dasar sebuah pendekatan klinis . Ed: Joko Suyono, Vivi Sadikin, Lydia IM. Penerbit buku Kedokteran EGC.2000 :513-32
29. Prasetyo A. Pengaruh injeksi adrenalin dan diet kuning telur terhadap kadar lipid, jumlah sel busa, dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus wistar. Tesis : Program Magister Ilmu Biomedik. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang. Juli , 2002
30. Kusmiyati DK. Pengaruh Pemberian Vitamin E Terhadap Fraksi Lipid Serum Tikus Hiperkolesterolemik. Tesis. Program Magister Ilmu Biomedik . Program Pascasarjana Universitas Diponegoro. Semarang. 2000
31. Hathcock JN, Rader JJ. Micronutrient safety. Dalam :Micronutrients and immune Functions. Editor: Adrienne Bendich dan Ranjit K.Chandra.The New York Academy Of Sciences . New York.1990:261
32. Asdie AH, Deddy Nur Wachid, Harakati WA. Antioksidan dan Kualitas hidup. Dalam : Seminar Nasional Peran Antioksidan dalam Menghambat Proses Penuaan. Editor : Hadi Saroso, Moch Arif Nugroho. FK Unissula Semarang. 2003.
33. Susilo Wibowo. PADAM (Partial Androgen Deficiency in Aging Male). Universitas Diponegoro press. Semarang 1996 : 5-17.

**34. Santoso S. SPSS versi 10 mengolah data secara profesional. PT Elex media
komputindo. Jakarta.2002:422-8**